

**Empfindlichkeitsprüfung von euterpathogenen coliformen
Keimen gegenüber BAY VP 2674-BAYTRIL®,
Cephacetril und Gentamicin**

Anton Steinberger



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K. Walser

EMPFINDLICHKEITSPRÜFUNG VON EUTERPATHOGENEN COLIFORMEN
KEIMEN GEGENÜBER BAY VP 2674 - BAYTRIL[®],
CEPHACETRIL UND GENTAMICIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Anton Steinberger
aus
Grabenstätt

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. K. Walser

Korreferent: Prof. Dr. G. Terplan

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

Meinen Eltern
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Die akute Mastitis	3
2.1.1. Klinisches Bild	3
2.1.2. Prädisponierende Faktoren	4
2.1.3. Anteil der coliformen Keime am akuten Mastitisgeschehen	5
2.1.4. Colimastitis	7
2.2. Der Keim	8
2.2.1. Geschichte	8
2.2.2. Taxonomie	9
2.2.3. Morphologische, kulturelle, biochemi- sche und serologische Eigenschaften ..	10
2.2.3.1. Morphologie	10
2.2.3.2. Kultur	10
2.2.3.3. Biochemie	10
2.2.3.4. Serologie	11
2.2.4. Krankheiten durch E. coli	13
2.2.4.1. Jungtiere	13
2.2.4.2. Adulte Tiere	14
2.3. Chemotherapeutika	15

	Seite
2.3.1. BAY Vp 2674	16
2.3.1.1. Allgemeines und Chemie	16
2.3.1.2. Antibakterielle Wirksamkeit	17
2.3.1.3. Wirkungsweise	19
2.3.1.4. Pharmakokinetik	19
2.3.1.4.1. Resorption	19
2.3.1.4.2. Verteilung	23
2.3.1.4.3. Ausscheidung	24
2.3.1.5. Nebenwirkungen	24
2.3.2. Cephacetril	25
2.3.2.1. Allgemeines und Chemie	25
2.3.2.2. Antibakterielle Wirksamkeit	26
2.3.2.3. Wirkungsweise	27
2.3.2.4. Pharmakokinetik	29
2.3.2.4.1. Resorption	29
2.3.2.4.2. Verteilung	32
2.3.2.4.3. Ausscheidung	32
2.3.2.5. Resistenzbildung	33
2.3.2.6. Nebenwirkungen	33
2.3.3. Gentamicin	34
2.3.3.1. Allgemeines und Chemie	34
2.3.3.2. Antibakterielle Wirksamkeit	36
2.3.3.3. Wirkungsweise	38

	Seite
2.3.3.4. Pharmakokinetik	40
2.3.3.4.1. Resorption	40
2.3.3.4.2. Verteilung	42
2.3.3.4.2. Ausscheidung	44
2.3.3.5. Resistenzbildung	44
2.3.3.6. Nebenwirkungen	45
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
3.1. Material	47
3.2. Methodik	48
3.2.1. Bakteriologische Untersuchung	48
3.2.1.1. Blutagar	48
3.2.1.2. Endo-C-Agar	48
3.2.1.3. Gram-Färbung	49
3.2.2. Prüfung der Sensibilität der isolier- ten Stämme von E. coli, Pseudomonas aeruginosa und Proteus vulgaris gegen- über verschiedenen antibakteriellen Substanzen im Agar-Diffusionstest (Blättchentest) in vitro	49
3.2.3. Prüfung der Sensibilität der isolier- ten Stämme von E. coli, Pseudomonas aeruginosa und Proteus vulgaris gegen- über antibakteriellen Substanzen durch Bestimmung der MHK in vitro	51

	Seite
3.2.3.1. Herstellung der Stammlösungen und der Verdünnungsreihen	52
3.2.3.2. Herstellung der Agar-Platten	54
3.2.3.3. Beimpfen der Platten	54
3.2.3.4. Auswertung	56
3.2.3.5. Statistische Berechnung	56
3.3. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	58
3.3.1. Anzahl der coliformen Keime	58
3.3.2. Ergebnis des Resistenztestes	58
3.3.3. Ergebnis der MHK-Bestimmung.....	63
4. DISKUSSION	70
5. ZUSAMMENFASSUNG	76
SUMMARY	78
LITERATURVERZEICHNIS	80
LEBENS LAUF	

1. E I N L E I T U N G

=====

Die akuten Mastitiden stellen den praktizierenden Tierarzt immer wieder vor schwierige diagnostische und therapeutische Entscheidungen. Nur ein möglichst gezieltes Eingreifen in das akute Krankheitsgeschehen kann das betroffene Drüsengewebe erhalten oder den Verlust des Tieres verhüten.

Die häufigsten Erreger dieser Mastitisform sind *E. coli* und andere coliforme Keime. Ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika und Antibiotika variiert sehr stark. Sensibilitätsprüfungen sind mit dem einfachen Blättchentest möglich, der in der Praxis vielfach Verwendung findet. Er erlaubt aber lediglich eine Aussage darüber, ob ein Medikament gegen eine bestimmte Keimart wirksam ist oder nicht. Er sagt nichts über die therapeutisch notwendige Dosierung des Medikamentes aus. Hierzu muß die Minimale Hemmkonzentration (MHK) herangezogen werden, das ist die geringste Konzentration einer antibakteriellen Substanz, die das Wachstum der Bakterien *in vitro* hemmt. Dieser Wert wird in Beziehung gesetzt zur notwendigen Wirkstoffkonzentration *in vivo*, der Konzentration also, die man im lebenden Organismus erreichen kann. Hierfür wiederum ist die Kenntnis vom Verhalten des Medikamentes im Körper, wie Resorption, Verteilung und Elimination, wichtig.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Minimale Hemmkonzentration von BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin für eine größere Anzahl von coliformen Keimen bestimmt. Unter Einbeziehung der pharmakologischen

Eigenschaften dieser antibakteriellen Substanzen sollen diese Werte dazu dienen, Mißerfolge bei der Mastitis-therapie zu verringern.

2. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

2.1. DIE AKUTE MASTITIS

2.1.1. KLINISCHES BILD

Die akute Mastitis kann sich innerhalb weniger Stunden entwickeln.

Das betreffende Viertel ist vermehrt warm, gerötet, schmerzhaft und erheblich geschwollen, die Haut über dem Viertel ist nicht mehr abziehbar. Das Sekret aus dem erkrankten Viertel zeigt meist starke Verminderung und Veränderung. Es kann nur wenige Milliliter betragen, ist milchig wässrig, wässrig, serumähnlich, blutig, serös, zuweilen mit Gerinnseln oder Flocken durchsetzt. Auch die Milchleistung der nicht erkrankten Viertel ist erheblich vermindert. Zumeist entwickeln sich sehr rasch neben der erheblich schmerzhaften Euterschwellung lebensbedrohende Störungen des Allgemeinbefindens, wie rascher Temperaturanstieg, Herz- und Kreislaufschwäche, Inappetenz, hochgradige Mattigkeit. Häufige Begleitsymptome sind Muskelzittern, Verdauungsstörungen, Pansenstillstand, Durchfall und in einzelnen Fällen Festliegen (WALSER und Mitarb., 1972).

Das Schrifttum konstatiert nahezu übereinstimmend eine häufigere Erkrankung der Hinterviertel (HUPKA, 1934; AEHNELT und KRAUSE, 1955; HEIDRICH und KELCH, 1956; RENK, 1957; GRUNERT und WEIGT, 1964; KOHZ, 1971; WALSER und Mitarb., 1972; FRÜH, 1976; ROTERS, 1979).

ULLNER (1959) stellt eine Befallshäufigkeit von Vorder- und Hintervierteln im Verhältnis 1 : 2 fest. Er erklärt sich das aus der Tatsache, daß die Hinterviertel stärker durch Schmutz und Traumen gefährdet sind.

KALICH (1958) hatte bei seinen Untersuchungen über die Colimastitis einen Prozentsatz von 69 % (Hinterviertel) zu 31 % (Vorderviertel) ermittelt. Er verweist in diesem Zusammenhang auf eine größere Abkühlungsmöglichkeit durch die größere Hautoberfläche der Hinterviertel.

2.1.2. PRAEDISPONIERENDE FAKTOREN

Akute Mastitiden treten gehäuft kurz nach der Geburt, im Frühpuerperium und im ersten Laktationsdrittel zur Zeit der höchsten Milchleistung auf. Als Ursache dafür wird eine Resistenzminderung der Drüse durch eine hohe Leistungsbeanspruchung genannt. Außerdem können Puerperalstörungen Ausgangspunkt für akute Milchdrüsenerkrankungen sein (AEHNELT und KRAUSE, 1955; KALICH, 1958; NEUNDORF, 1960; GLÄTTLI, 1961; REISER, 1967; RIEDERER, 1968; WALSER und Mitarb., 1972; ROTERS, 1979; MÜLLER und BERCHTOLD, 1979).

Aufgrund klinischer Beobachtungen wurden schon sehr früh Zusammenhänge zwischen Fütterung und Mastitis vermutet und erforscht. Plötzliche Futterumstellung, verdorbene Silage, schimmeliges Heu, Rübenblätter können zu intestinalen Störungen führen, wobei im Gefolge akute Mastitiden entstehen (RUDOLF, 1928; BAUER und Mitarb., 1953; AEHNELT und KRAUSE, 1955; HEIDRICH und KELCH, 1965; DIERNHOFER, 1956; NEUNDORF, 1960; RENK, 1962; KÄSTLI, 1963; LAUERMANN, 1964; SCHMID-LINDNER, 1967; SCHEEL, 1968; KOHZ, 1971; WALSER und Mitarb., 1972).

Auch Haltungsbedingungen sind von Bedeutung. Zu enge Aufstallung, Feuchtigkeit, Zugluft, schlechte Einstreu wirken begünstigend für akute Mastitiden (GÖTZE, 1951; BAIER und Mitarb., 1954; HEIDRICH und KELCH, 1956; KALICH, 1958; ULLNER, 1959; NEUNDORF, 1960; SCHMALSTIEG, 1960; SCHILDBACH, 1960; GLÄTTLI, 1961; HEIDRICH und RENK, 1963; ROTERS, 1979).

Die Mehrzahl der Untersucher fand eine Häufung akuter Mastitiden in den heißen Monaten, in einer Jahreszeit also, in der sich die Klimaverhältnisse durch besonders wechselhaftes Wetter mit großen Temperaturschwankungen auszeichnen (KALICH, 1958; ULLNER, 1959; SCHILDBACH, 1960; TEUTE, 1961; SCHMID-LINDNER, 1967; WALSER und Mitarb., 1972; FRÜH, 1976; LEUENBERGER und Mitarb., 1978; MÜLLER und BERCHTOLD, 1979).

2.1.3. ANTEIL DER COLIFORMEN KEIME AM AKUTEN MASTITIS- GESCHEHEN

Im Sekret aus Eutervierteln mit einer akuten Mastitis werden nach HEIDRICH und RENK (1963) vorwiegend *Escherichia coli*, daneben *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, Streptokokken und Staphylokokken nachgewiesen. Des weiteren wurden Salmonellen, Pasteurellen, *Pseudomonas aeruginosa*, Clostridien, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus* und *Sphaerophorus necrophorus* festgestellt. Der prozentuale Anteil von coliformen Keimen variiert bei den verschiedenen Untersuchern stark (siehe Tabelle 1) .

Tabelle 1

Anteil der coliformen Keime am akuten Mastitisgeschehen

Viertel N	Coliforme %	Untersucher
200	34,0	ROLLE, 1932
808	2,0	STABLEFORTH, 1950
43	34,9	HEIDRICH und KELCH, 1956
72	66,9	KALICH, 1958
43	55,8	SCHILDBACH, 1960
50	58,0	FIEBINGER und SPIEL- BERGER, 1963
86	23,3	MÜCK, 1963
100	38,0	SCHMID-LINDNER, 1967
1058	54,9	WALSER und Mitarb., 1972
109	58,0	WINTER, 1974
149	26,2	FRÜH, 1976
100	25,0	OSIGA und Mitarb., 1976
107	46,7	LEUENBERGER und Mitarb., 1978
111	33,4	OSSKO, 1978
139	10,7	ROTTERS, 1979
607	24	MÜLLER und BERCHTOLD, 1979
106	30,2	OBERMEYER, 1981
189	17,0	TIDESTROM, 1983
334	42,2	SCHNEEMEIER, 1985

2.1.4. COLIMASTITIS

Bei der Coliinfection des Euters lassen sich die verschiedenen Stufen von dem anfänglich geringen katarrhalischen Reizzustand bis zur schweren Form der parenchymatösen Mastitis und letztlich bis zum Übergreifen der Infektion bzw. Intoxikation auf den gesamten Organismus erkennen. Dies ist abhängig von Art und Toxizität der Krankheitserreger, vom allgemeinen und örtlichen Abwehrzustand des Tieres und von praedisponierenden Faktoren. Der natürliche Infektionsweg ist haematogen und galactogen.

Colibakterien können eine toxische Wirkung entfalten. Diese toxischen Colikeime wandern aus dem Darm in die Blutbahn und siedeln sich im Euter an. Bei entsprechender Disposition entwickelt sich eine Colimastitis mit schweren Intoxikationserscheinungen, bedingt durch die Bakterientoxine und die Abbauprodukte aus dem entzündeten Gewebe (z.B. Histamine) (GOETZE, 1951; BAIER und Mitarb., 1954; DIERNHOFER, 1954; AEHNELT und KRAUSE, 1955; FEY, 1958, zit. LEUENBERGER, 1978; RENK, 1962; WEIGT und FRERKING, 1967; SAID, 1973).

Nach WEIGT (1984) hat eine Colimastitis ihre Ursachen immer im Tier selbst oder im Management.

Ursachen für das Auftreten von Colimastitiden:

- Peripartale Komplikationen

(Läsionen im Geburts- und Darmtrakt) ca. 30 %

- Organ- und Allgemeininfektionen
(Enteritis, Peritonitis, Phlegmonen u.a. ca. 30 %
- Euter- und Zitzenverletzungen
(im betroffenen oder auch Nachbarviertel ca. 30 %
- Melktechnische und hygienische Mängel ca. 10 %

Aus dieser zusammenfassenden Darstellung der primären Ursachen für die Colimastitiden ist erkennbar, daß in der Mehrzahl der Fälle ein haematogener bzw. lymphogener Infektionsweg vorliegt.

Die Colimastitis ist also überwiegend eine " Folgeerkrankung "; das erklärt auch, warum am Anfang der Colimastitis die Allgemeinstörungen oft bereits stärker ausgeprägt sind als die lokal an der Milchdrüse erkennbaren Veränderungen erwarten lassen, und warum die parenterale Medikation eine entscheidende Rolle spielt.

2.2. DER KEIM

2.2.1. GESCHICHTE

ESCHERICH Theodor (1857 - 1911) isolierte 1886 das Bacterium coli aus den Ausscheidungen von Kindern. Die Antigenstruktur der Escherichia-Kulturen ist durch den komplizierten, mosaikartigen Aufbau von thermolabilen und thermostabilen O-, K- und H - Antigenen gekennzeichnet (SEDLAK und RISCHE, 1961).

Schon zu Beginn der Einführung serologischer Methoden in die bakteriologische Forschung wurde erkannt, daß sich E. coli-Kulturen in der Agglutinationsprobe verschieden verhalten (CONRADI und BIERAST, 1913). Bis zur Entdeckung der thermolabilen L-Antigene (Hüllantigene) - im Jahre 1942 durch KAUFFMANN (1943) - war die Bakteriologie der Gattung Escherichia sehr unübersichtlich, und eine serologische Unterteilung mittels Agglutinationsreaktionen hat zu keinem brauchbaren Ergebnis geführt (SCHMIDT, 1942).

Nachdem JENSEN (1913) in den Jahren 1891 - 1892 bei spontanen Ausbrüchen der Kälberruhr und in darauffolgenden Versuchen an Kälbern E. coli als Erreger der Erkrankung nachgewiesen hatte, und diese Tatsache von anderen Autoren (POELES, 1899; JOEST, 1903; TITZE und WEICHEL, 1910) bestätigt worden war, hat CHRISTIANSEN (1917) zur Identifizierung von pathogenen E. coli die ersten eingehenden Untersuchungen vorgenommen. Es dauerte allerdings bis 1943, ehe die systematischen Untersuchungen von KAUFFMANN über die Antigenstruktur der Escherichia-Kulturen dann zur Aufklärung der Unregelmäßigkeiten und Widersprüche der bisherigen Befunde über das serologische Verhalten von E. coli führten.

2.2.2. Taxonomie

Der zu den gramnegativen Stäbchenbakterien , Familie Enterobacteriaceae, zählenden Gattung Escherichia gehören mehrere Spezies an, unter anderem (FARMER und Mitarb., 1985) E. coli.

2.2.3. Morphologische, kulturelle, biochemische und serologische Eigenschaften der Spezies *E. coli* (BERGEY, 1974; ROLLE und MAYR, 1984; HALLMANN und BURKHARDT, 1974)

2.2.3.1. Morphologie

Mittelgroße (1,1 - 1,5 µm breit, 2,0 - 6,0 µm lang), gramnegative Stäbchen, überwiegend begeißelt; nur vereinzelt Kapselbildung oder Fimbrien.

2.2.3.2. Kultur

Nutritive Ansprüche gering, üppiges Wachstum auf allen üblichen Substraten; Koloniedurchmesser nach 24 h Bebrütung 1 - 3 mm; Kolonieform: mäßig gewölbt bis flach rundlich oder unregelmäßig, glatt (S-Form) oder rau (R-Form). Ein Teil der Stämme hämolysierend, gelegentlich Schleimbildung, etwa 1/3 der Stämme nicht beweglich.

2.2.3.3. Biochemie

In der " Bunten Reihe " werden zu 90 % folgende Substrate gespalten: Laktose, Maltose, Arabinose, Trehalose, Mannit und Glycerin. Nicht gespalten werden: Inosit, Harnstoff, Malonat, Gelantine und Citrat.

In der Regel positiv sind: Indol- und Methylrotprobe. Nicht gebildet werden: H_2S und Phenylalanin-desaminase. Negative Resultate liefern: KCN- und Voges-Proskauer-Test.

Der KCN-Test (nach BRAUN) ist ein Verfahren zur biochemischen Differenzierung gramnegativer Stäbchen nach der Empfindlichkeit des aeroben Stoffwechsels gegenüber

Kaliumzyanid (KCN). Wenn trotz Zusatzes von KCN zum flüssigen Nährboden nach Bebrütung eine Trübung infolge Keimwachstums auftritt, ist der Test positiv.

Die Voges-Proskauer-Reaktion dient zum Nachweis der Bildung von Azetylmethylkarbinol durch *Enterobacter aerogenes* zur Differenzierung gegen *Escherichia coli*. In einer Traubenzucker-Bouillon-Kultur tritt nach Zusatz von Eisenchlorid und Kalilauge bei Anwesenheit von *Enterobacter aerogenes* eine rötliche Färbung auf, die durch *E. coli* allein nicht hervorgerufen wird.

2.2.3.4. Serologie

Es werden O-, H- und K-Antigene unterschieden. Zusätzlich können M- (mucus = Schleim) und F- (Fimbrien) Antigene vorkommen.

- Somatische - (O-) Antigene

Chemisch handelt es sich um einen Lipopolysaccharid-Protein-Komplex, der in der Zellwand lokalisiert ist. Die O-Antigene sind mit dem Endotoxin identisch und bewirken nach parenteraler Applikation relativ hohe Antikörpertiter. Die Agglutinabilität wird etwa nach einer 2-stündigen Erhitzung auf 100° - 120° C aufgehoben. Es sind etwa 150 mit arabischen Zahlen bezeichnete Coli-O-Gruppen bekannt.

- Hüllen - (K-) Antigene

K-Antigene sind aus Polysacchariden aufgebaut und an der Zelloberfläche lokalisiert. Nach KAUFMANN (1943) kann man sie aufgrund der unterschiedlichen Hitzeempfindlichkeit in drei Gruppen - L, B und A - unterteilen.

Normalerweise besitzen Colistämme nur eines der drei möglichen K-Antigene. Unabhängig vom Typ des Antigens wird heute mit fortlaufenden arabischen Zahlen numeriert; die des Antigens kann in Klammern angefügt sein, z.B. K 25 (B).

- Geißel - (H-) Antigene

H-Antigene werden nach einer Stunde bei 100° C zerstört. Als Proteine haben sie gute antigenische Eigenschaften.

E. coli-Stämme mit einer Makrokapsel verfügen außerdem noch über M-Antigene

Neben den seit langem bekannten, mit K- bezeichneten, Kapselantigenen werden auch die Fimbrien- oder Pilus-Antigene als K- Antigene bezeichnet. Bei diesen Antigenen handelt es sich um thermolabile Proteinantigene, die auf den zur Anheftung dienenden Fimbrien oder Pili sitzen. Die bekanntesten Fimbrienantigene sind die K 88 - und K 99 - Antigene.

2.2.4. KRANKHEITEN DURCH E. COLI

Escherichia coli ist bei Mensch und warmblütigen Tieren der normale Bewohner des Colons.

Mit den Ausscheidungen von Mensch und Tier gelangt der Keim in die Umwelt und bleibt dort aufgrund einer relativ hohen Widerstandskraft über lange Zeit vermehrungsfähig. Wird E. coli z.B. in Lebensmitteln tierischer Herkunft oder im Wasser nachgewiesen, gilt die Gattung als Indikator für faekale Verunreinigung.

2.2.4.1. Jungtiere

Erkrankungen der Jungtiere durch E. coli treten vornehmlich bei Ferkeln, Kälbern und Lämmern auf, wobei es sich in der Regel um septikämische oder enteritische Formen handelt.

Drei Formen kommen beim Schwein vor und zwar Diarrhoe neugeborener Ferkel, Diarrhoe der Absatzferkel und die Ödemkrankheit.

Beim Kalb treten zwei Formen von Erkrankungen durch E. coli auf, die Coliseptikämie und die Colidiarrhoe. Bei der septikämischen Form handelt es sich um eine Bakteriämie, an der die Tiere sterben. Die Infektion erfolgt gewöhnlich über den Nasen-Rachenring. E. coli gelangt dabei über die Lymphknoten in den Blutkreislauf.

Bei der Colidiarrhoe kommt es zu keiner Bakteriämie, weil sich die enteropathogenen Keime nur im Dünndarm vermehren.

In manchen Gegenden (z.B. England) erkranken auch Lämmer durch *E. coli*. Man unterscheidet hier eine systemische und enteritische Form. Bei der systemischen Form führt die auftretende Bakteriämie zu einer Generalisation mit plötzlichem Tod. Die enteritische Form ist durch Anorexie und Dehydration gekennzeichnet.

2.2.4.2. Adulte Tiere

Bei älteren Tieren wird *E. coli* als Eiter- und Entzündungserreger (z.B. bei Mastitis, Endometritis, Cystitis) angetroffen.

Beim Hund kann *E. coli* Harnwegsinfektionen und Endometritiden verursachen.

Beim Rind verursacht sie Mastitiden, die bei akutem Verlauf von gestörtem Allgemeinbefinden begleitet sind (BERGEY, 1974; ROLLE und MAYR, 1984).

2.3. CHEMOTHERAPEUTIKA

Schon bald nach Entdeckung der Bakterien wurde versucht, Mittel zu finden, mit denen Bakterien abgetötet oder wenigstens im Wachstum gehemmt werden können. Stellen diese Mittel Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen dar, so werden sie Antibiotika genannt.

Zwei Faktoren lassen jedoch immer wieder neue bakterielle Resistenzprobleme entstehen (WIESMANN, 1978). Zum einen ist es der Selektionsdruck, der durch den Einsatz der Antibiotika selbst ausgeübt wird und zum Überleben resistenter Mikroorganismen führt. Andererseits handelt es sich um die Resistenzausbreitung, bedingt durch die " Mobilität der Gene " (WIEDEMANN und Mitarb., 1979), das heißt die Übertragung extrachromosomaler DNS durch R-Plasmide von Bakterium zu Bakterium.

Solange es gilt, dadurch entstehende und auch bestehende Lücken im Aktivitätsspektrum der verfügbaren Präparate zu schließen, ist die Wissenschaft gefordert, immer wieder neue Antibiotika zu erforschen.

Im folgenden seien aus Literaturangaben die wichtigsten Eigenschaften der in vorliegender Untersuchung verwendeten Chemotherapeutika BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin beschrieben.

2.3.1. BAY Vp 2674

Die folgenden Ausführungen über die Eigenschaften und Untersuchungsergebnisse des Chemotherapeutikums BAY Vp 2674 stammen ausschließlich aus der von BAYER AG am 31.8.1984 zur Verfügung gestellten Produktinformation.

2.3.1.1. Allgemeines und Chemie

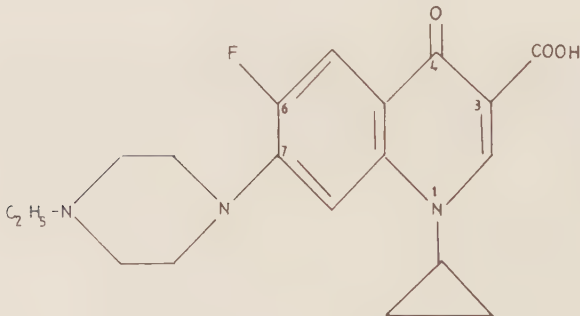
BAY Vp 2674 ist ein neues synthetisches Chemotherapeutikum aus der Reihe der Chinoloncarbonsäurederivate, entwickelt in den Forschungslaboratorien der Firma BAYER.

Chemisch ist das Präparat eine
1-Cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-3-chinolincarbonsäure.

Das Molekulargewicht beträgt : 359,4

Die Summenformel lautet : $C_{19} H_{22} F N_3 O_3$

Strukturformel:



BAY Vp 2674 ist in Wasser unter sauren und alkalischen Bedingungen löslich.

2.3.1.2. Antibakterielle Wirksamkeit

Das Wirkungsspektrum von BAY Vp 2674 umfaßt gramnegative Bakterien mit der Gruppe der Enterobakterien (E. coli, Salmonella, Klebsiella, Proteus), sowie Haemophilus, Pasteurella, Actinobacillus und Moraxella, aber auch Bordetella, Brucella und Pseudomonas. Die Substanz ist außerdem wirksam gegen Mycoplasmen, grampositive Keime, wie Staphylokokken, Streptokokken und Enterokokken sowie Anaerobier. Selbst gegen β -Lactamase produzierende und Aminoglycosid-resistente Bakterien war eine Wirksamkeit zu verzeichnen.

Die in-vitro-Wirksamkeit (MHK) von BAY Vp 2674 wurde gegenüber Bakterienstämmen verschiedener Tierarten geprüft. Die Bereiche der minimalen Hemmkonzentrationen sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2

BAY Vp 2674 - Bereich der minimalen Hemmkonzentrationen
aller von Tieren isolierten Bakterienstämme (BAYER)

E. coli	(138) *	0,01	-	0,25
Salmonella	(88)	0,003	-	0,12
Klebsiella	(36)	0,03	-	0,5
Proteus				
Indol (+)	(30)	0,03	-	0,25
Indol (-)	(25)	0,06	-	0,5
Haemophilus				
somnus	(12)	0,01	-	0,5
pleuropneum.	(5)	0,01	-	0,03
Pasteurella				
multocida	(65)	0,001	-	0,12
haemolytica	(57)	0,001	-	0,12
Actinobacillus	(2)	0,01		
Moraxella	(2)	0,03		
Pseudomonas	(5)	0,5	-	1
Brucella	(2)	0,12	-	0,25
Bordetella	(26)	0,12	-	4
Campylobacter	(3)	0,06		
Staphylococcus				
aureus	(60)	0,03	-	1
intermedius	(5)	0,12		
hyicus	(9)	0,12	-	0,25
Streptococcus				
B	(1)	1		
C	(5)	0,5	-	1
D	(47)	0,25	-	4
Listeria	(4)	1	-	2
Erysipelothrix	(4)	0,06		
Corynebacterium	(14)	0,5	-	4
Bacteroides	(4)	2	-	4
Fusobacterium	(3)	2	-	4
Clostridium	(6)	0,25	-	2
Mycoplasma	(4)	0,03	-	1

* Zahl der geprüften Stämme

2.3.1.3. Wirkungsweise

BAY Vp 2674 wirkt bakterizid. Es wird angenommen, das Chemotherapeutikum hemmt bei empfindlichen Keimen die DNA-Gyrase; ein Mechanismus, der auch bei anderen Chinoloncarbonsäurederivaten sowie der Nalidixinsäure zu beobachten ist.

2.3.1.4. Pharmakokinetik

2.3.1.4.1. Resorption

BAY Vp 2674 wird bei oraler und parenteraler Applikation gut resorbiert und bietet somit die Voraussetzung für eine Anwendung bei systemischen Infektionen. Therapeutisch wirksame Blutspiegel werden eine halbe Stunde nach Verabreichung erreicht.

Nach Angaben des Herstellers werden nach oraler, subkutaner, intramuskulärer sowie intravenöser Applikation die in Tabelle 3 und 4 wiedergegebenen Wirkstoffspiegel im Blutserum erreicht.

Tabelle 3

Wirkstoffspiegel im Blutserum von Kälbern nach oraler Applikation von BAY Vp 2674
(BAYER)

A) Klinisch gesunde Tiere

Zahl der Tiere	Gewicht	Alter (Lebens-woche)	Dosis (mg/kg)	Applikation	Wirkstoffspiegel in mcg/ml (Stunden p. appl.)							
					0	0,5	1	2	4	8	24	
3	37-40	1. Woche	2,5	direkt, 300ml Wasser anschließend	<	1,2	<u>1,4</u>	1,1	0,9	0,7	0,2	
3	37-44	2. Woche	2,5	direkt, ohne Flüssigkeit	<	0,3	0,6	<u>0,7</u>	<u>0,7</u>	<u>0,8</u>	0,2	
3	44-54	2. Woche	2,5	gelöst in MAT	<	0,4	0,4	0,4	<u>0,8</u>	<u>0,9</u>	0,4	
3	50-62	6. Woche	2,5	direkt, 300 ml Wasser anschließend	<	0,05	0,2	<u>0,5</u>	<u>0,6</u>	0,4	0,2	
3	66-80	8. Woche	2,5	gelöst in Elektrolyt	<	<u>0,8</u>	<u>0,8</u>	<u>0,9</u>	<u>0,8</u>	0,5	0,05	
3	58-82	8. Woche	2,5	gelöst in MAT	<	0,5	0,6	0,8	0,9	0,5	0,04	

B) Tiere mit E. coli - Sepsis und -Diarrhoe

3	.	1. Woche	0,5		<	0,13	0,17	<u>0,27</u>	<u>0,3</u>	0,07	
3	.	1. Woche	1,0	direkt in Kapseln	<	0,17	0,25	<u>0,43</u>	0,63	0,3	
2	.	1. Woche	2,5	oder als Tabletten	<	0,59	1,0	<u>1,5</u>	<u>1,65</u>	0,68	
2	.	1. Woche	2,5		<	0,51	1,1	<u>3,6</u>	<u>4,2</u>	3,4	

< = Kleiner als Nachweisgrenze von 0,01 mcg/ml Serum

Tabelle 4

Wirkstoffspiegel im Blutserum von Rindern nach parenteraler Applikation von BAY Vp 2674
(BAYER)

A) Klinisch gesunde Tiere

Zahl der Tiere	Gewicht (kg)	Alter	Dosis (mg/kg)	Applikation	Wirkstoffspiegel in mcg/ml (Stunden p. appl.)							
					0	0,5	1	2	4	8	24	
3	500	Jungbünd	2,5	i.v.	<	<u>1,3</u>	0,9	0,5	0,2	0,08	0,01	
3	41-53	1. Woche	2,5	i.m.	<	<u>0,9</u>	1,2	1,4	1,3	0,8	0,2	
3	62-68	6. Woche	2,5	i.m.	<	<u>1,0</u>	1,0	<u>1,1</u>	1,0	0,6	0,06	
3	91-112	13. Woche	2,5	i.m.	<	<u>0,6</u>	0,6	<u>0,6</u>	0,4	0,1	0,01	
3	119-135	15. Woche	2,5	i.m.	<	<u>0,8</u>	0,7	0,6	0,5	0,2	<	
3	112-122	13. Woche	2,5	i.m.	<	<u>1,0</u>	0,9	0,7	0,4	0,1	<	
3	ca. 400	Jungbünd	2,5	i.m.	<	0,1	0,8	<u>0,9</u>	0,6	0,2	<	
3	ca. 400	Jungbünd	2,5	s.c.	<		0,3	<u>0,3</u>	0,3	0,2	<	
3	ca. 400	Jungbünd	2,5	s.c.	<		<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	0,2	<	

B) Tiere mit E. coli-Sepsis und -Diarrhoe

3		2 Tage	1,0	i.v.	<		1,0	0,8	0,7	0,6	0,4
1		2 Tage	1,0	i.m.	<		0,6	0,7	0,8	0,7	0,4
3		2 Tage	2,5	i.m.	<		1,4	<u>1,7</u>	1,5	1,5	0,9

< = Kleiner als Nachweisgrenze von 0,01 mcg/ml Serum

Die Ergebnisse zeigen, daß sich die Wirkstoffspiegel im Blutserum sowohl bei oraler als auch bei parenteraler Applikation abhängig von der Dosierung verhalten. Die maximalen Wirkstoffspiegel werden bei oraler Verabreichung in Abhängigkeit vom Alter meist nach ein bis zwei Stunden erreicht.

Bei parenteraler Verabreichung werden die maximalen Serumkonzentrationen nach zwei Stunden erreicht, sind hier aber abhängig von der Applikationsart (i.v., i.m., s.c.). Bei i.v. Injektionen liegt der Wirkstoffspiegel nach 30 Minuten p. appl. deutlich höher als bei anderen Applikationsarten, verringert sich aber vergleichsweise schneller. Mit einer i.m. Verabreichung werden bei vergleichenden Prüfungen höhere Wirkstoffspiegel erreicht als nach s.c. Applikation.

Bei wiederholter Behandlung im 24-stündigen Abstand konnte weder nach i.m. noch nach s.c. Verabreichung eine Kumulation im Blutserum festgestellt werden.

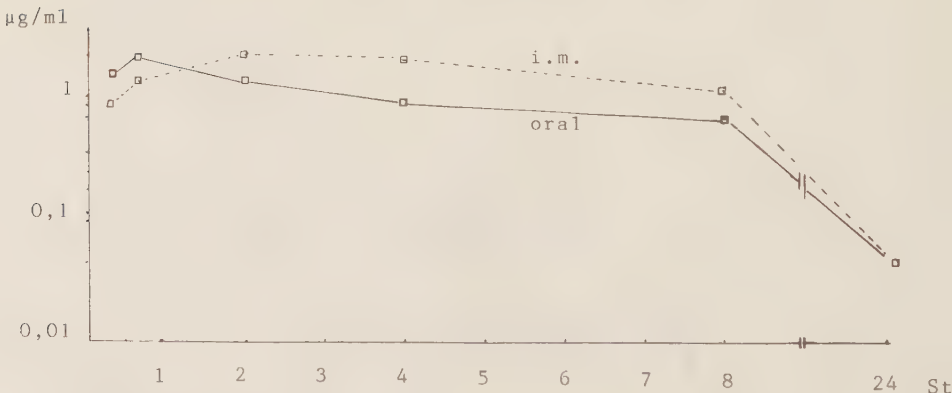


Abb. 1

Serumkinetik beim Kalb nach oraler und i.m. Applikation von 2,5 mg/kg in der 1. Lebenswoche (nach BAYER)

2.3.1.4.2. Verteilung

Die Affinität von BAY Vp 2674 für bestimmte Gewebe zeigt Tabelle 5. Die Versuche wurden an Läufer~~sch~~weinen nach i.m. Applikation von 2,5, mg/kg durchgeführt.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich, werden in den Geweben (Lunge, Schleimhaut, Tonsillen, Haut, Nieren, Uterus u.a.) höhere Wirkstoffspiegel gemessen als im Blutserum.

Die höchsten Konzentrationen treten im Urin und in der Galle auf.

Tabelle 5

BAY Vp 2674 - Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) in Körperflüssigkeiten und Geweben bei Läufer~~sch~~weinen nach i.m. Appl. v. 2,5 mg/kg

Material	Stunden p. appl.					
	1	2	4	6	8	24
<u>Serie 1</u>						
Serum	0,8	0,6	0,4	0,3	0,2	0,03
Galle	3,9	5,1	4,0	6,6	3,1	0,5
Urin	11,5	8,8	10,7	15,7	4,5	0,6
Herz	1,9	1,1	0,7	0,6	0,2	0,04
Lunge	2,7	1,7	1,0	0,9	0,4	0,08
Leber	1,7	1,1	0,7	0,7	0,4	0,05
Milz	1,8	1,0	0,6	0,6	0,4	0,07
Niere	2,6	1,7	1,1	1,1	0,6	0,09
Muskulatur	2,0	1,3	0,7	0,7	0,3	0,04
Fett	1,1	0,6	0,3	0,4	0,1	<
Haut ^{a)}	1,1	0,7	0,5	0,5	0,2	0,05
Haut ^{b)}	1,1	0,6	0,3	0,3	0,2	0,05
Gehirn	1,1	0,3	0,2	0,2	0,08	<
Uterus	1,4	.	0,5	.	0,2	.
Ovar	1,7	.	0,7	.	0,2	.
Hoden	.	1,6	.	0,9	.	0,07
Knochen ^{c)}	1,9	0,7	0,7	0,4	0,2	<
<u>Serie 2</u>						
Serum	.	0,9	0,6	.	0,4	0,08
Nasenknorpel	.	1,2	1,2	.	0,8	0,2
Nasenschleimhaut	.	2,0	1,5	.	0,9	0,3
Tonsillen	.	2,2	1,7	.	0,9	0,2
Ln.mandib.	.	4,8	1,2	.	0,8	0,1

a) Kopf

b) Schenkelinnenfläche

c) Rippen

2.3.1.4.3. Ausscheidung

Die Ausscheidung der Substanz erfolgt hauptsächlich mit Galle und Harn. Diese Aussage beruht auf Untersuchungen, die mit Hilfe der ^{14}C -markierten Verbindung an der Ratte durchgeführt wurden. Dabei wurden nach oraler und intravenöser Applikation von 5 bis 10 mg BAY Vp 2674/kg im Zeitraum von 48 Stunden etwa $1/4$ der Aktivität mit dem Harn und fast $3/4$ der Aktivität mit den Faeces eliminiert.

2.3.1.5. Nebenwirkungen

Aus den bisher vorliegenden Verträglichkeitsprüfungen ist mit Wechselwirkungen und Gegenanzeigen nicht zu rechnen. Bei Versuchen mit 4 Monate alten Beagle-Welpen wurden erst bei Dosierungen von 60 mg/kg über 14 Tage degenerative Veränderungen an den Gelenken festgestellt. 30 mg BAY Vp 2674/kg sind aufgrund der histologischen Befunde als toxikologische Schwellendosis beurteilt worden.

2.3.2. Cephacetril

2.3.2.1. Allgemeines und Chemie

Auf der Suche nach neuen Antibiotika mit Wirksamkeit gegen Penicillin-resistente Stämme fand man die Cephalosporine.

Nachdem 1964 die Aufklärung der chemischen Struktur des 1945 erstmals isolierten Grundkörpers der Cephalosporine, der 7-Amino-Cephalosporansäure, gelang, wurden im gleichen Jahr die ersten halbsynthetischen Präparate Cephalotin und Cephaloridin hergestellt, denen wenige Jahre später die ersten oral anwendbaren Cephalosporine, Cephaloglycin und Cephalixin folgten (FORTH und Mitarb., 1980; OTTEN und PLEMPER, 1979).

Diese Antibiotikagruppe besitzt einige vorteilhafte Eigenschaften des Penicillins, wie bakterizider Wirkungstyp durch Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese und relativ geringe Toxizität mit den weiteren Vorteilen der geringen Allergiefahr, der Wirksamkeit auch im Bereich gramnegativer Bakterien und der Penicillinasefestigkeit (SIMON und STILLE, 1979).

Seit der Einführung sind eine Vielzahl von Cephalosporinen angeboten worden, wobei die Tendenz zur Verbreiterung des Wirkspektrums deutlich wird.

Im Jahre 1970 wurde erstmalig das in den Forschungslaboratorien von Ciba/Geigy synthetisierte Cephacetril beschrieben.

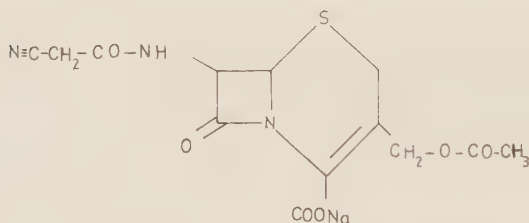
Der chemische Name von Cephacetril lautet

3-Acetoxymethyl-7-(2-cyanacetamido)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo 4.2.0. -oct-2-en-2carbonsäure, Natriumsalz

Das Molekulargewicht beträgt: 361, 31

Die Summenformel lautet : $C_{13}H_{12}N_3NaO_6S$

Strukturformel:



Cephacetril ist bei pH-Werten ≥ 3 zu mehr als 10 % wasserlöslich. Im pH-Bereich von 7,5 ist Cephacetril stabiler als bei höheren alkalischen pH-Werten (WALTER und HEILMEYER, 1975; MAURICE und Mitarb., 1974).

2.3.2.2. Antibakterielle Wirksamkeit

Cephacetril zeigt das Cephalosporin-typische, breite Wirkungsspektrum.

Meningokokken, Pneumokokken, Streptokokken, Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, Enterokokken, Salmonellen, Klebsiellen, Proteus mirabilis, Shigellen und E. coli sind in der Regel bei einer Konzentration von 15 µg/ml gegen Cephacetril empfindlich. Ein Teil der Stämme von Haemophilus influenzae, Citrobacter und Acinetobacter ist ebenfalls empfindlich, während Serratia, indolpositive Proteus, Enterobacter, Moraxellen, Providencia und Pseudomonas als gegen Cephacetril unempfindlich bezeichnet werden müssen (KRADOLFER und Mitarb., 1974) .

ZIV und NOUWS (1977) untersuchten die in vitro-Aktivität von Cephacetril gegenüber bovinen euterpathogenen Keimen sowie anderen pathogenen, von neugeborenen Kälbern und Ferkeln isolierten Bakterienarten mit dem Ergebnis, daß bei einer Konzentration von ≤ 3 µg/ml 75 % der untersuchten grampositiven Stämme gehemmt wurden.

Cephacetril-Konzentrationen von $\leq 0,4$ µg/ml hemmten 75 % der getesteten E. coli-Stämme.

Pseudomonas aeruginosa erwies sich zu 100 % als resistent.

2.3.2.3. Wirkungsweise

Cephacetril wirkt primär bakterizid durch Störung der Zellwandsynthese.

β-Lactam-Antibiotika hemmen den letzten Schritt in der Mukopeptidsynthese, in dem sie die in diesem Prozeß aktive Transpeptidase hemmen und damit die Quervernetzung im Makromolekül stören. Dadurch wird der Aufbau der bakteriellen Zellwand behindert (KRADOLFER und Mitarb., 1974) .

Über die Kinetik der Bakterizidie berichten SCHLUEP und Mitarb. (1979): in Mastitismilch wurden grampositive Kokken durch Konzentrationen von 2 $\mu\text{g/ml}$ innerhalb von 24 Stunden abgetötet. Für die Abtötung von *E. coli* sind höhere Konzentrationen notwendig (8 $\mu\text{g/ml}$), während die Einwirkungszeit 6 Stunden beträgt. (s. Abb. 2).

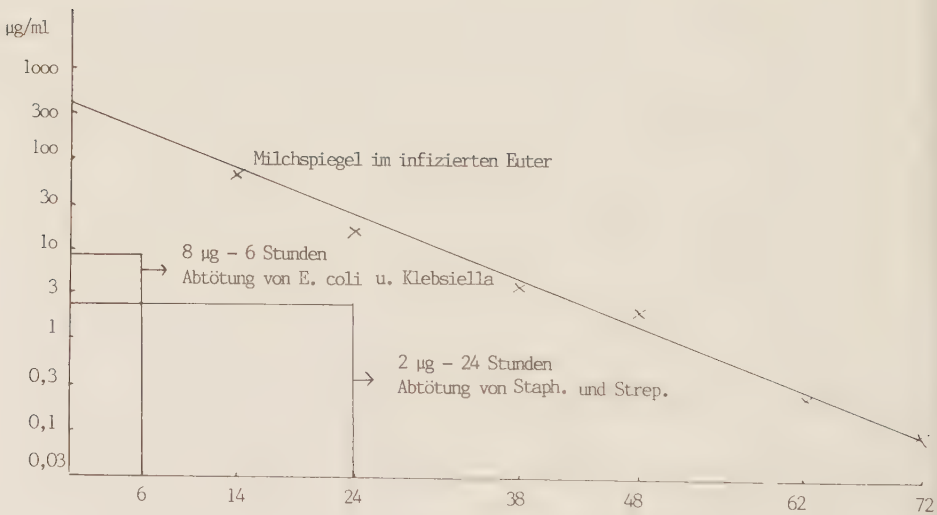


Abb. 2

Kinetik der Bakterizidie [SCHLUEP und Mitarb., 1979]

2.3.2.4. Pharmakokinetik

2.3.2.4.i. Resorption

Das Präparat wird parenteral verabreicht und hat günstige pharmakokinetische Eigenschaften (MARGET und ROOS, 1981).

Nach i.v. Applikation von 1 g Wirksubstanz werden beim Menschen Serumspiegel von durchschnittlich 56,2 µg/ml (15 Min.), 19,3 µg/ml (1 Std.) und 0,9 µg/ml (6 Std.) erreicht (MAURICE und Mitarb., 1974).

DVOŘÁČEK und Mitarb. (1974) geben die in Tabelle 6 zusammengefaßten Serumkonzentrationen (µg/ml) nach i.m. und i.v. Applikation von 1g Cephacetril bekannt. Nach Ablauf der ersten Stunde ist die Differenz zwischen der mittleren Serumkonzentration nach i.v. und nach i.m. Verabreichung nicht mehr statistisch signifikant.

Tabelle 6

Serumkonzentrationen von Celospor (1g) nach i.v. und i.m. Applikation (DVOŘÁČEK und Mitarb., 1974)

	5 min	10 min	15 min	20 min	40 min	60 min
i.v.	87,4(±12,9)	69,3(±10,3)	55,8(±10,3)	44,2(±8,2)	27,2(±5,5)	18,7(±3,2)
i.m.	-	8,8(±4,8)	-	12,6(±6,1)	16,8(±7,3)	17,0(±5,1)
	80 min	100 min	2 h	4 h	6 h	8 h
i.v.	15,1(±1,7)	11,9(±2,8)	9,4(±2,2)	3,1(±1,2)	1,2(±0,6)	0,37(±0,32)
i.m.	14,4(±3,4)	13,2(±2,6)	10,8(±1,9)	4,0(±1,2)	1,5(±0,7)	0,62(±0,43)

ZIV und Mitarb. (1977) untersuchten die Pharmakokinetik von Cephacetril nach intravenöser und intramuskulärer Applikation beim Rind. Sowohl bei der intravenösen als auch intramuskulären Injektion wurde eine Dosierung von 8,5 mg/kg gewählt. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 3 abzulesen.

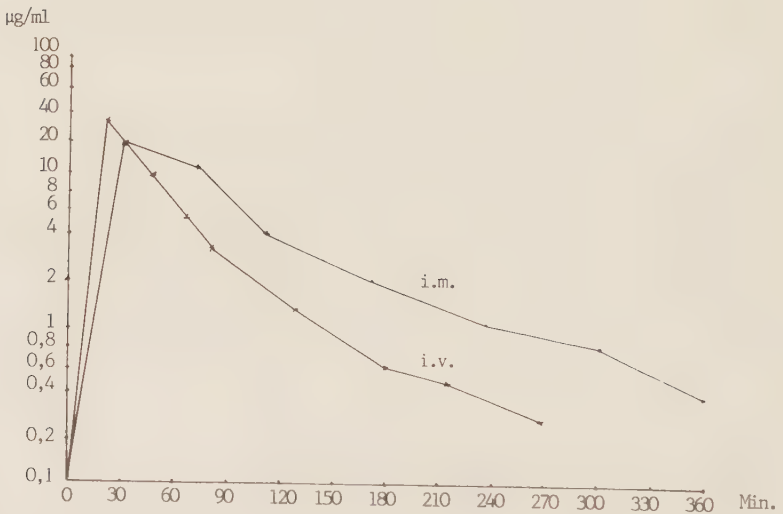


Abb. 3

Serumkonzentrationen von Cephacetril bei Kühen nach i.v. und i.m. Injektionen von 8,5 mg/kg [ZIV und Mitarb., 1977]

Bei der intramammären Applikation von 250 mg Cephacetril-Na pro Injektor werden 14 Stunden nach der Instillation Maximalspiegel von 59 - 80 $\mu\text{g/ml}$ gemessen.

Bis zu 48 Stunden ist ein gegen grampositive Keime wirksamer Spiegel von über 2 $\mu\text{g/ml}$ gewährleistet. Die für die Abtötung der E. coli-Keime benötigte Konzentration wird bis zu 25 Stunden erzielt.

Bei einer Nachweisgrenze von 0,03 $\mu\text{g/ml}$ ist 96 Stunden nach der Behandlung keine Wirksubstanz mehr nachweisbar (SCHLUEP und Mitarb., 1979; SCHLUEP und Mitarb., 1980).

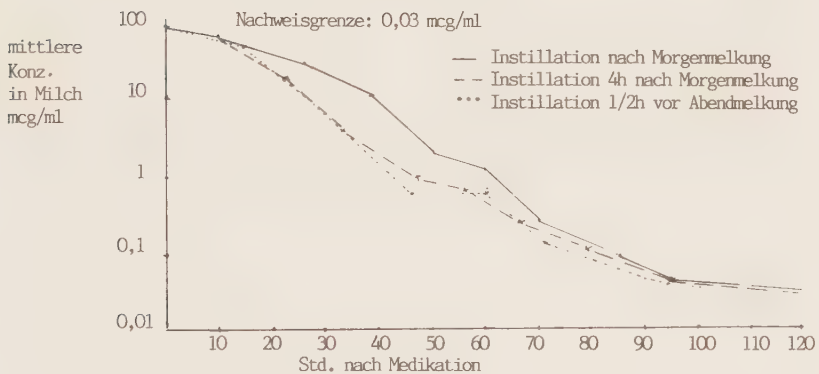


Abb. 4

Graphische Darstellung der Eliminationskinetik von Cephacetril
[SCHLUEP und HEIM, 1980]

2.3.2.4.2. Verteilung

Die Substanz Cephacetril wird nach intramuskulärer Injektion vollständig resorbiert. Therapeutisch wirksame Konzentrationen wurden nach i.m. Verabreichung im Blut nach 15 Minuten, im Urin nach 45 Minuten, im Liquor nach 30 Minuten, im Nabelschnurblut nach 2 - 3 Stunden und im Fruchtwasser nach 4 - 5 Stunden gefunden. Auch in Knochen und Prostata wurden antibakteriell wirksame Konzentrationen nachgewiesen (MAURICE und Mitarb., 1974).

2.3.2.4.3. Ausscheidung

Das parenteral applizierte Cephacetril wird vorwiegend renal eliminiert.

Durchschnittlich werden 97,3 % der i.v. Dosis und 94,8 % der i.m. Dosis in biologisch aktiver Form im Urin sowohl durch glomeruläre Filtration als auch durch tubuläre Sekretion ausgeschieden. (DVOŘÁČEK und Mitarb., 1974).

% Ausscheidung im Urin

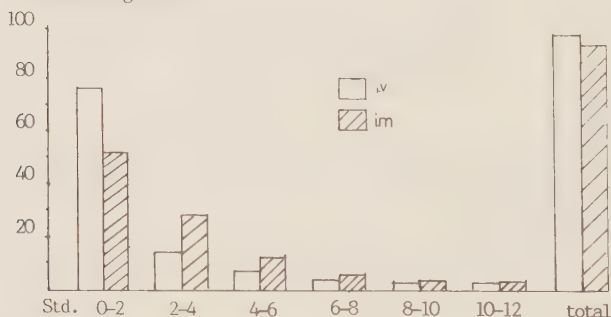


Abb. 5

Durchschnittskonzentrationen von Cefalosporin im Urin ($\mu\text{g/ml}$) nach i.v. und i.m. Verabreichung von 1g [DVOŘÁČEK und Mitarb., 1974]

ZIV und NOUWS (1977) berichten von Versuchen mit Ziegen; danach waren zwölf Stunden nach der Behandlung 82 %, nach 26 Stunden 92,6 % und nach 32 Stunden 94 % der intramuskulär verabreichten Dosis Na-Cephacetril wieder im Harn zu entdecken.

2.3.2.5. Resistenzbildung

Mit Resistenzsteigerung unter der Therapie ist nur bei einigen Keimen mit primär ungünstigen MHK-Werten zu rechnen (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Nach den Resistenzangaben von KRADOLFER und Mitarb. (1974) sind Empfindlichkeitstestungen vor Therapiebeginn empfehlenswert bei *E. coli*, *Proteus*, *Haemophilus infl.*, *Citrobacter* und *Acinetobacter*.

Untersuchungen über die Empfindlichkeit von coliformen Keimen wurden von GEDEK (1984) durchgeführt. Von 200 isolierten coliformen Keimen erwiesen sich 8,5 % als unempfindlich gegenüber Cephacetril.

2.3.2.6. Nebenwirkungen

Für alle Cephalosporine gilt, daß sie allergische Reaktionen auslösen können, die überwiegend die Haut betreffen. Gelegentlich werden reversible Leuko- und Thrombozytopenien beobachtet. Bei intravenöser Applikation können Thrombophlebitiden auftreten; nach intramuskulärer Injektion kann es zu Schmerzen und Gewebsschädigungen kommen.

Cephalosporine ergeben einen falschen positiven Coombs-Test (WALTER und HEILMEYER ,1975; KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1984).

MAURICE und Mitarb. (1974) verabreichten 266 Patienten Cephacetril i.v.. Bei langsamer Gabe - 1g in etwa 3 Minuten - erwies sich die Injektion als schmerzlos. Nur bei zu schneller Gabe kam es zu Venenschmerzen. Bei i.m. Anwendung lassen sich lokale Schmerzreaktionen durch Verwendung von 2 %igem Lidocain als Lösungsmittel vermeiden.

Die akute LD₅₀ i.v. beträgt bei der Maus 4,5 g/kg. Bei Hunden verursachten 0,6 g/kg i.v. Erbrechen, eine einmalige Dosis von 6 g/kg war tödlich (KRADOLFER und Mitarb., 1974).

2.3.3. Gentamicin

2.3.3.1. Allgemeines und Chemie

Gentamicin ist ein Komplex aus verschiedenen Einzelfraktionen basischer Antibiotika, der aus Kulturen von *Microspora purpura* bzw. *echinospora* Anfang der 60er Jahre in den USA isoliert wurde.

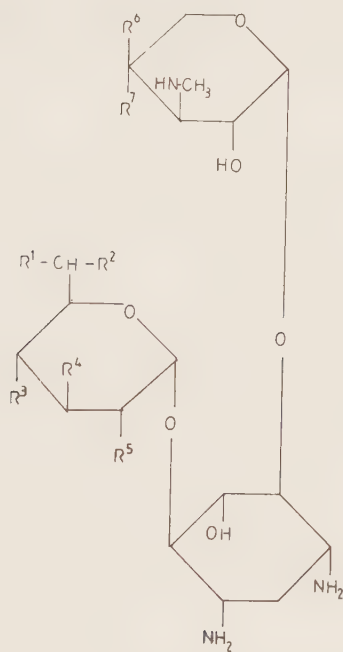
Den Wirkstoffkomplex erforschten und beschrieben zuerst WEINSTEIN und Mitarb. (1963).

Gentamicin ist ein basisches Oligosaccharid-Gemisch, das im wesentlichen aus drei Komponenten besteht, bei denen es sich jeweils um nahe verwandte Trisaccharide handelt (FORTH und Mitarb., 1980).

Das Molekulargewicht beträgt: 425 ± 21

Die Summenformel lautet: $C_{17-18}H_{34-36}N_4O_7$

Strukturformel:



Gentamicin - handelsüblich als Sulfat-Salz - ist gut löslich in Wasser, Formamid, Äthylenglycol, 0,1 n-NaOH und 0,1 n-HCl.

Die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln wie Methanol, Alkohol, Aceton, Benzol, halogenierten Kohlenwasserstoffen ist gering (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Das Wirkungsoptimum liegt im alkalischen Bereich bei pH 7,8; bei pH 6,6 sind zwei- bis vierfache, bei pH 5,5 über 30- fach höhere Wirkstoffkonzentrationen notwendig (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.3.3.2. Antibakterielle Wirksamkeit

Aufgrund seines Wirkungsspektrums zählt Gentamicin zu den Breitband-Antibiotika. Von den grampositiven Keimen reagieren vor allen Staphylokokken, von den gramnegativen *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Serratia sensibel*. Mäßig empfindlich sind Gonokokken, *Proteus mirabilis*, Salmonellen, *Haemophilus influenzae* und Streptokokken (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Gentamicin ist in vitro gegenüber etwa 90 % der gramnegativen Keimarten (aus Patientenmaterial) bei einer Konzentration von 4 µg/ml wirksam.

ALTUCCI und Mitarb., (1966) fanden, daß gramnegative Keime in vitro bei einer Konzentration unter 4 µg/ml bis zu 90 % (in vielen Fällen bis zu 100 %) gehemmt werden.

Nach HEPDING und WAHLIG (1966) übertrifft Gentamicin dabei zum Teil die ihm chemisch verwandten Glycoside.

KIELWEIN (1971) fand bei seinen Untersuchungen keine Resistenz von Pseudomonaden gegenüber Gentamicin.

Die antibakterielle Wirkung von Gentamicin ist von WAHLIG (1966) an 171 Bakterienstämmen der verschiedenen Keimarten geprüft worden. 84 % aller getesteten Keime wurden durch eine Konzentration von 5 µg/ml gehemmt, während eine Konzentration von 10 µg/ml eine Hemmung von 96 % der Keime herbeiführte.

ZIV (1980) berichtet, daß 95 % von E. coli-Keimen, isoliert von Kälbern und von Kühen mit akuter Mastitis, bei einer Gentamicin-Konzentration von 0,5 µg/ml gehemmt werden.

MC DONALD und Mitarb. (1977) untersuchten die antibakterielle Wirksamkeit von Gentamicin an 214 gramnegativen Keimen. Nur 9 der 214 Keime waren resistent, dies entspricht einer Hemmquote von 96 %.

Speziell bei euterpathogenen Keimen, insbesondere im gramnegativen Bereich (E. coli, Pseudomonas aeruginosa), wird Gentamicin von vielen Autoren als sehr zuverlässiges Antibiotikum beschrieben.

SOGAARD (1982) untersuchte 131 E. coli-Stämme aus Milch akuter Mastitiden. Gentamicin, Colistin und Polymyxin B konnten durch 2 µg/ml mehr als 90 % der Stämme hemmen.

Nach seinen Untersuchungen liegen keine Resistenzen gegenüber diesen drei Antibiotika vor.

GEDEK (1984) konnte bei 243 euterpathogenen *E. coli*-Isolaten keine Resistenzen gegenüber Gentamicin feststellen.

Resistenzuntersuchungen von WEIGT (1984) an 248 coliformen Keimen, die aus Sekreten akuter Mastitiden isoliert wurden, zeigten eine 100 % ige Empfindlichkeit gegenüber Gentamicin.

2.3.3.3. Wirkungsweise

Gentamicin wirkt bakterizid auf wachsende und ruhende Keime. Der Angriffspunkt ist wie bei allen Aminoglycosiden die Proteinsynthese der Bakterien. Durch Bindung an die 30-S-Untereinheit der Ribosomen hemmt Gentamicin die Verlängerung der Peptidkette und führt zu Ablesefehlern. Dadurch entstehen Nonsens-Produkte und Fehlentwicklungen (WALTER und HEILMEYER, 1975; WIESMANN, 1978).

Über die Kinetik der Bakterizidie von Gentamicin berichten STILLE und SHAH (1973), daß bei in vitro-Versuchen nach 95 Minuten eine 99 % ige Abtötung von *E. coli* durch Gentamicin in einer Konzentration von 5 µg/ml erreicht wird.

Verglichen mit anderen Chemotherapeutika setzt die antibakterielle Wirkung von Gentamicin (5 µg/ml) gegenüber *E. coli* nach einer relativ langen Latenzphase von 30 Minuten ein (Abb. 6).

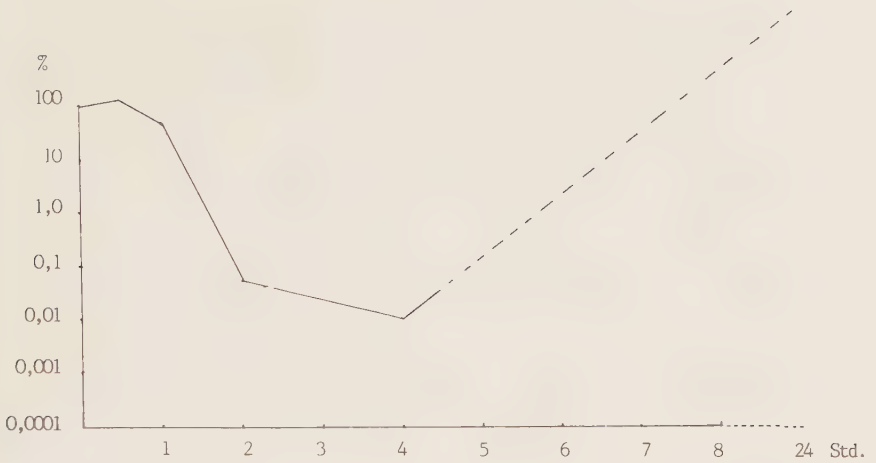


Abb. 6

Kinetik der Bakterizidie von 5 µg/ml Gentamicin gegenüber *E. coli* [STILLE und SHAH, 1973]

STILLE und SHAH (1973) berichten weiterhin, daß bei Dosis-Wirkungsrelations-Versuchen mit Gentamicin sich eine eindeutige konzentrationsabhängige bakterizide Wirkung ergab (Abb. 7).

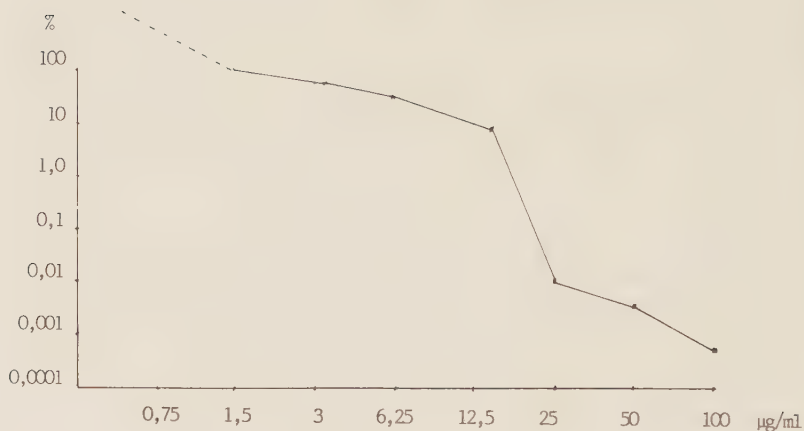


Abb. 7

Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Gentamicin gegenüber *E. coli* (exp. 1 Std.) [STILLE und SHAH, 1973]

2.3.3.4. Pharmakokinetik

2.3.3.4.1. Resorption

Aufgrund einer enteralen Resorptionsquote von 0,2 - 0,5 % kommt nur eine parenterale Anwendung dieses Medikamentes in Frage, die ohne starke Beeinflussung der Kinetik sowohl intramuskulär als auch intravenös erfolgen kann (MC CRACKEN und Mitarb., 1977; MORSELLI, 1977).

Mit einer Dosis von 80 mg werden beim Menschen Serumspiegel von durchschnittlich 5 mg/l (1 Std.) und 0,6 mg/l (6 Std.) erreicht (SIMON und STILLE, 1979).

ZIV und Mitarb. (1980) untersuchten die Pharmakokinetik von Gentamicin nach intravenöser Applikation beim Kalb. Die Serumwerte wurden in der ersten Stunde alle zehn Minuten, in der zweiten Stunde zweimal und dann nach der 3., 4., 5., 6., 8. und 10. Stunde gemessen. Bei der intravenösen Injektion in die Jugularvene wurde eine Dosierung von 3 mg/kg gewählt.

Folgende Abbildung beinhaltet die Ergebnisse:

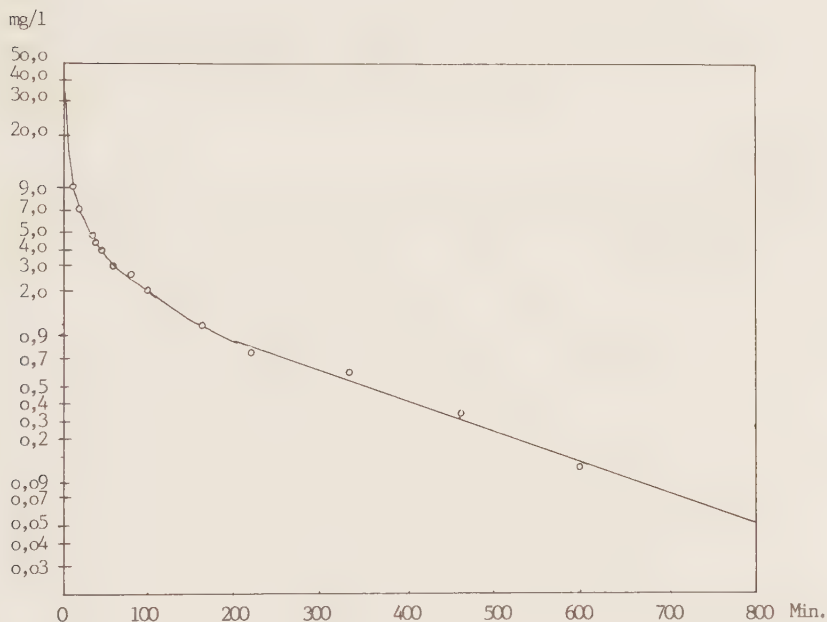


Abb. 8

Serumkonzentration von Gentamicin bei einem Kalb nach einer einmaligen intravenösen Injektion von 3 mg/kg [ZIV und Mitarb., 1982 a]

2.3.3.4.2. Verteilung

ZIV und Mitarb. (1982 a) untersuchten die Affinität von Gentamicin für bestimmte Gewebe. Die Versuche wurden an 4 - 5 Wochen alten Kälbern durchgeführt. Gentamicin wurde in einer Konzentration von 3 mg/kg intravenös appliziert. Die Konzentration von freiem und an Gewebe gebundenem Gentamicin ist in Tabelle 7 wiedergegeben. Die höchsten Konzentrationen fand man in der Niere und zwar überwiegend in freier Form und im Urin. Die Gentamicinkonzentrationen in der Lunge, Leber, Herz und Skelettmuskulatur erreichten nur niedrige Werte, während im Gehirn keine Gentamicinwerte nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 7

Die Konzentration von freiem und an Gewebe gebundenem Gentamicin in den Organen und Körperflüssigkeiten eines Kalbes nach einer einmaligen intravenösen Injektion von Gentamicin (3,0 mg/kg) [ZIV und Mitarb., 1982 a]

Organe	Stunden nach der Injektion (Konzentration: µg/ml)									
	4		8		12		24		48	
	frei	gebund.	frei	gebund.	frei	gebund.	frei	gebund.	frei	gebund.
Niere	320,0	148,0	242,0	100,0	194,0	78,0	92,0	36,6	45,0	18,0
Leber	1,2	0,45	0,85	0,40	0,20	-	-	-	-	-
Lunge	0,85	-	0,60	-	-	-	-	-	-	-
Herz	0,85	-	0,65	-	0,20	-	-	-	-	-
Skel.-Musk.	0,65	-	0,40	-	0,20	-	-	-	-	-
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galle	22,0	-	12,5	-	8,2	-	-	-	-	-
Urin	318,0	-	287,8	-	153,0	-	108,2	-	51,4	-
Serum	0,62	0,10	0,40	-	0,18	-	-	-	-	-

Tabelle 8

Die Menge von Gentamicin in Organen und Körperflüssigkeiten von Kälbern nach einer einmaligen intravenösen Injektion von Gentamicin (3,0 mg/kg) [ZIV und Mitarb., 1982 a]

Organe	Stunden nach der Inj. (% der verabreichten Dosis)				
	4	8	12	24	48
Niere	46,4	33,9	27,0	12,7	6,3
Leber	0,86	0,65	0,10	-	-
Lunge	0,27	0,31	-	-	-
Herz	0,19	0,12	0,04	-	-
Skel.-Musk.	8,07	5,00	1,48	-	-
Gehirn	-	-	-	-	-
Galle	0,18	0,08	0,06	-	-
Urin	42,5	18,5	9,5	17,5	5,5
Sammelurin	-	61,0	70,5	88,0	93,5
Serum	0,08	0,04	0,02	-	-
Total	98,6	101,0	99,2	100,7	99,8

Aus Tabelle 8 ist ersichtlich, daß sich nach 24 Stunden nur noch in der Niere und im Urin Gentamicinkonzentrationen befinden. Selbst nach 48 Stunden lassen sich noch 6,3 % der Ausgangskonzentration in der Niere nachweisen.

2.3.3.4.3. Ausscheidung

Das parenteral verabreichte Gentamicin wird beinahe zu 100 % in unveränderter, antibiotisch wirksamer Form durch Glomerulusfiltration ausgeschieden. Die Ausscheidung über die Leber erreicht kein nennenswertes Ausmaß (APPEL und NEU, 1978).

LODE und Mitarb. (1975) berichten, daß das Präparat in nichtmetabolisierter Form binnen 24 Stunden zu 69,2 % über die Nieren, ein geringer Anteil mit der Galle ausgeschieden wird.

Es ist jedoch bis zu einem Monat nach Absetzung im Urin nachweisbar (SIMON und STILLE, 1979).

Abbildung 9 gibt die von ZIV und Mitarb. (1982) erstellten Ergebnisse wieder. Danach sind zwölf Stunden nach einer Gentamicin-Behandlung etwa 70 % der verabreichten Menge über die Niere ausgeschieden worden, nach 48 Stunden ca. 90 %.

2.3.3.5. Resistenzbildung

Primärresistenzen werden heute häufiger beobachtet. Die Fähigkeit zur Produktion inaktivierender Enzyme (Adenyl-Phospho- und Acetyltransferasen) können durch R-Plasmide auf andere Bakterien übertragen werden. Vereinzelt sind auch Fälle einer erworbenen Resistenz unter der Therapie beobachtet worden (WALTER und HEILMEYER, 1975; KNOTHE und WIEDEMANN, 1975; WIEDEMANN und Mitarb., 1979).

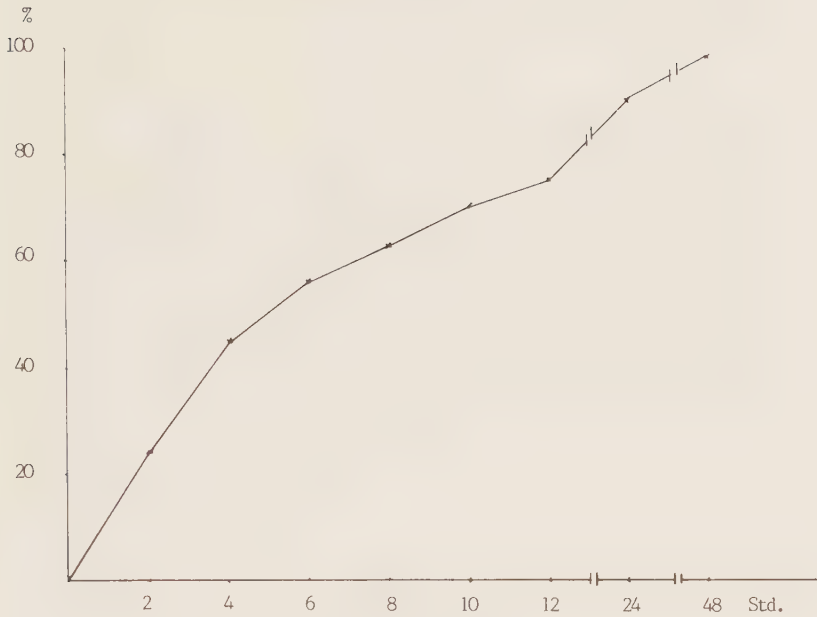


Abb. 9

Gentamicin Ausscheidung im Urin nach einer einmaligen intravenösen Injektion [ZIV und Mitarb., 1982 a]

2.3.3.6. Nebenwirkungen

Unerwünschte Nebenwirkungen sind insbesondere die Ototoxizität (FEDERSPIL, 1976) mit Schwindel, Tinnitus, Nystagmus (WALTER und HEILMEYER, 1975) sowie die Nierenschädigung mit Proteinurie und Exkretion von Nierenepithelien und Harnenzymen (RÖMER und MATZ, 1972;

SACK und FREIESLEBEN, 1975; SACK und Mitarb., 1976).
Weitere Nebenwirkungen - außer Exanthem - wurden bisher
nicht beobachtet.

Dosierungen von 40 mg/kg wurden von Versuchshunden 15
Tage und solche von 8 mg/kg 45 Tage vertragen. Hunde,
die eine Dosierung von 5,6 mg/kg erhielten, überlebten
50 Tage und zeigten lediglich trübe Schwellung und ver-
einzelten Kernzerfall der Tubuluszellen.

Die akute Toxizität wurde an der Maus bestimmt und ergab,
daß Gentamicin bei überlegener antibakterieller Wirksam-
keit nur etwa halb so toxisch wirkt wie Neomycin (BLACK
und Mitarb., 1963).

3. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

3.1. MATERIAL

Im Zeitraum Oktober 1984 - Juli 1985 wurden, als wichtigster Parameter der Empfindlichkeitsprüfung, die Minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) von BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin bei euterpathogenen coliformen Keimen im Agar Verdünnungstest bestimmt. Für die Prüfung standen 218 Isolate zur Verfügung.

79 Isolate wurden von praktizierenden Tierärzten im oberbayerischen Landkreis Traunstein gesammelt, die übrigen Kulturen stammten vom Tiergesundheitsdienst Traunstein, dem Tiergesundheitsdienst Kempten sowie der Gynäkologischen Tierklinik München.

Bei den Versuchsdurchführungen wurden auch drei Stämme der Gattung *Pseudomonas aeruginosa* sowie vier Stämme der Gattung *Proteus vulgaris* mitgeführt.

Zur Untersuchung kamen Milchproben von Kühen, die an akuter Mastitis erkrankt waren. Zur Diagnostizierung einer akuten Mastitis gelten die von WALSER und Mitarb. (1972) beschriebenen klinischen Symptome. Die Milchproben wurden nach der von DIERNHOFER (1950) empfohlenen Methode entnommen und bis zur wöchentlichen Untersuchung an der Gynäkologischen Tierklinik München bei Kühlschranktemperatur gelagert.

3.2. METHODIK

3.2.1. BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

3.2.1.1. Blutagar

In der Gynäkologischen Tierklinik München wurden die Milchproben untersucht. Zur Anzucht wurde als Nährboden ein Blutagar verwendet.

Zusammensetzung des Blutagars (g/Liter):

33 Tryptose-Blood-Agar-Base (DIFCO)
1 Aeskulin
1000 ml Aqua dest.
dazu 7 % gewaschene Rindererythrozyten.

Pro Blutagarplatte wurden vier Milchproben im fortlaufenden Ausstrichverfahren ausgestrichen. Nach einer Bebrütungszeit von 24 Stunden bei 37° C erfolgte die Beurteilung anhand der Kulturmorphologie und des muffigen urinösen Geruches.

3.2.1.2. Endo-C-Agar

Zur weiteren Differenzierung der coliformen Keime wurde Endo-C-Agar (Merck Art.Nr. 4044) verwendet.

Zusammensetzung des Endo-C-Agars (g/Liter):

10,0	Pepton aus Fleisch
3,5	di-Kaliumhydrogenphosphat
10,0	Lactose
2,5	Natriumsulfit, wasserfrei
0,4	Fuchsin
12,5	Agar-Agar
1000	Aqua dest.

Nach Überimpfung und Bebrütung über 24 Stunden bei 37° C zeigten die Kolonien einen grünschimmernden, beständigen Metallglanz (Fuchsinglanz). Eine Differenzierung von coliformen und E. coli ist auf diese Weise mit hinreichender Sicherheit möglich.

3.2.1.3. Gram-Färbung

Konnte mit Hilfe der Blutagarplatten und Endo-C-Agarplatten keine eindeutige Zuordnung getroffen werden, so wurde eine Färbung nach Gram durchgeführt.

3.2.2. PRÜFUNG DER SENSIBILITÄT DER ISOLIERTEN STÄMME VON E. COLI, PSEUDOMONAS AERUGINOSA UND PROTEUS VULGARIS GEGENÜBER VERSCHIEDENEN ANTIBAKTERIELLEN SUBSTANZEN IM AGAR-DIFFUSIONSTEST (BLÄTTCHEN-TEST).

Die Prüfung der Sensibilität der isolierten Keime gegenüber den antibakteriellen Wirkstoffen BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin wurde zunächst im Agar-Diffusionstest nach den Richtlinien des Normenausschusses Medizin (DIN-Vorschrift 58940 Teil 2) durchgeführt. Bei diesem Test diffundiert aus einem Wirkstoffträger in Form eines Papier-

blättchens das Chemotherapeutikum in den festen Nährboden, auf den es aufgelegt wurde. Ist dieser Nährboden gleichzeitig mit Bakterien beimpft worden, entstehen nach Bebrütung um die Blättchen herum wachstumsfreie Zonen, sogenannte Hemmhöfe, deren Größe einen groben Rückschluß auf die Empfindlichkeit der betreffenden Bakterien gegenüber den antibakteriellen Substanzen zuläßt. Als Nährboden diente ASS-Agar (Antibiotika-Sulfonamid-Sensibilitätstest-Agar, Merck, Art.Nr. 5392) in vorgeschriebener Schichtdicke. Tabelle 9 zeigt die getesteten Chemotherapeutika, ihre Dosis und Beurteilungskriterien.

Tabelle 9

Geteste Chemotherapeutika, Beurteilungskriterien und Dosis (Mast-Diagnostika, Hamburg; Bayer; Ciba Geigy)

Chemotherapeutika	Dosis ($\mu\text{g}/\text{Tabl.}$)	Hemmhofdurchmesser	
		< mm resistent	> mm empfindlich
Ampicillin	10	14	19
Penicillin	6	29	29
Gentamicin	15	15	18
Erythromycin	15	17	21
Tetracyclin	30	17	22
Nitrofurantoin	100	11	16
Chloramphenicol	30	21	21
Cotrimoxazol	25	10	16
Polymyxin B	30	8	12
Oxacillin	5	16	16
Streptomycin	10	11	15
Neomycin	30	12	17
Spectinomycin	10	7	7
Lincomycin	15	19	24
Sulfamethazol	300	12	17
Cephacetril	30	13	17
BAY VP 2674	5	15	15

Der Hemmhofdurchmesser für BAY Vp 2674 von 15 mm bezieht sich auf Ciprofloxacin, ein artverwandtes, in der Humanmedizin entwickeltes Chinoloncarbonsäurederivat.

Auf der Blutagarplatte wurden mehrere morphologisch gleiche Kolonien berührt und die Keime in ein Röhrchen mit drei bis fünf Milliliter Nährbouillon (Standard II; Merck) gegeben. Nach Durchmischung der Suspension erfolgte mittels eines Wattetupfers der Ausstrich auf einer ASS-Agar-Platte derart, daß es nach Bebrütung der Platten zu einem dichten, aber nicht konfluierenden Wachstum kam. Die Bebrütungszeit betrug 24 Stunden bei einer Temperatur von 37° C.

3.2.3. PRÜFUNG DER SENSIBILITÄT DER ISOLIERTEN STÄMME VON E. COLI, PSEUDOMONAS AERUGINOSA UND PROTEUS VULGARIS GEGENÜBER ANTIBAKTERIELLEN SUBSTANZEN DURCH BESTIM- MUNG DER MINIMALEN HEMMKONZENTRATIONEN IN VITRO.

Die Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentrationen der antibakteriellen Wirkstoffe BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin für die isolierten Stämme wurde mit der Agar-Verdünnungsmethode nach den Vorschriften des Normenausschusses Medizin (DIN 58940 Teil 6) durchgeführt. Hierbei wurden zunächst feste Nährböden aus Mueller Hinton Agar mit abgestuften Wirkstoffkonzentrationen hergestellt. Diese wurden dann mit den Suspensionen der zu prüfenden Keime beimpft und bei 37° C 16 bis 20 Stunden bebrütet. Je nach der Empfindlichkeit der einzelnen Stämme dem Wirkstoff gegenüber, der in den Nährboden eingegossen war, stellten die Keime ihr Wachstum bei einer bestimmten Konzentrationstufe des Medikamentes ein. Die niedrigste Wirkstoffkonzentration, die auf der Agarplatte ein makroskopisch sichtbares Wachstum der Bakteriensuspension verhinderte, wurde als Minimale Hemmkonzentration registriert. Die Bakteriensuspension, das sogenannte Inokulum, enthielt 10^7 Keime/ml.

3.2.3.1. Herstellung der Stammlösungen und der Verdünnungsreihen

Um eine Stammlösung mit einer Konzentration von 2000 µg/ml zu bekommen, wiegt man 221,2 mg BAY Vp 2674, 200,6 mg Cephacetril sowie 335 mg Gentamicin ab und löst es durch Schütteln in 100 ml sterilem Aqua dest. auf.

Die unterschiedlichen Mengen erklären sich aus den verschiedenen Konzentrationen der Substanzen:

BAY Vp 2674	Konzentration	90,4 %
Cephacetril	Konzentration	99,7 %
Gentamicin	Konzentration	59,7 %

Berechnung des Umrechnungsfaktors auf 100 % (UF) bei Konzentration unter 100:

$$\begin{aligned} \text{Konzentration} \times X &= 100 \\ \text{UF} \times X &= 100 : \text{Konzentraion} \end{aligned}$$

BAY Vp 2674	UF	= 1,1106
Cephacetril	UF	= 1,003
Gentamicin	UF	= 1,675

Die einzelnen Schritte zur Herstellung der Stammlösungen und der Verdünnungsreihen sind der Tabelle 10 zu entnehmen. Die Wirkstoffkonzentrationen der nachfolgenden Stufen sind jeweils um die Hälfte reduziert. Für die Versuche wurden 16 Verdünnungsstufen mit Konzentrationen von 1280 µg/ml - 0,03906 µg/ml benötigt.

Tabelle 10
Anleitung zur Herstellung der Stammlösung und der Verdünnungsreihe.

Mischung			Gesamt- menge	Erreichte Konzentr. µg/ml	Konzentr. nach Zugabe von 9 Vol.- Teilen Agar - Medium µg/ml	$\log_2 x$
Wirkstoff		Aqua dest.				
Konzentr- ation µg/ml	Menge Volumen- teile	Volumen- teile	Volumen- teile			
2000	6,4	3,6	10	1280	128	7
1280	2	2	4	640	64	6
1280	1	3	4	320	32	5
1280	1	7	8	160	16	4
160	2	2	4	80	8	3
160	1	3	4	40	4	2
usw.						

3.2.3.2. Herstellung der Agarplatten

Ein Teil Verdünnung jeder Verdünnungsstufe wird mit jeweils neun Teilen Agar in ein Reagenzglas gegeben, gemischt, in Petrischalen gegossen und zum Erstarren gebracht. Pro Petrischale werden 20 ml wirkstoffhaltiger Agar berechnet. Ausgangskonzentrationen, Mischverhältnisse und Konzentrationen nach Zugabe von Volumenteilen Agar Medium enthält Tabelle 10.

Als Agar Medium wird gemäß den DIN Vorschriften Mueller Hinton Medium verwendet.

Zusammensetzung des Mueller Hinton Medium (g/Liter):

5,0	Fleisch infus.
17,5	Caseinhydrolysat
1,5	Stärke
12,5	Agar-Agar
7 %	defibriniertes Blut

3.2.3.3. Beimpfen der Platten

Diese Testplatten wurden nun mit einer Bakteriensuspension, die 10^7 vermehrungsfähige Keime enthält so beimpft, daß auf einer Fläche von $0,5 \text{ cm}^2$ etwa 10^4 Keime ausgestrichen wurden. Auf jeder Agarplatte können gleichzeitig mehrere Stämme untersucht werden, darunter muß mindestens ein Stamm mit bekannter Empfindlichkeit zur Kontrolle sein (*E. coli* DSM 1103) .

Die Bebrütungsdauer der beimpften Platten beträgt 16 - 20 Stunden bei $36 \pm 1^\circ \text{ C}$.

Um eine Bakteriensuspension mit 10^7 vermehrungsfähigen Keimen zu erhalten, werden die auf Endoplaten überimpften Kulturen mit etwa 4 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, vorsichtig aufgerührt und anschließend in ein Reagenzglas pipettiert.

Von dieser Keimsuspension muß nun eine Zehner-Verdünnung hergestellt werden. Dazu wird, ausgehend von der Keimsuspension, jeweils 0,1 ml in das folgende, mit 0,9 ml physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Reagenzglas überpipettiert. 0,1 ml Lösung aus dem letzten Reagenzglas werden verworfen.

Nach diesem Arbeitsgang sind neun Verdünnungen mit einer Verdünnungsstufe von 10^{-1} bis 10^{-9} hergestellt.

Aus jeder Verdünnung werden nun 0,1 ml auf eine Endplatte pipettiert und mit einem Glasspatel gleichmäßig verteilt. Anschließend werden die Platten bei 36°C 20 Stunden bebrütet. Man wählt nun die Platte, bei der die Zahl der einzelnen Kolonien zwischen 10 und 100 liegt, multipliziert die ermittelte Anzahl mit 10 und erhält die Keimzahl pro Milliliter der zugehörigen Verdünnung. Anhand dieser bekannten Keimzahl läßt sich nun die Konzentration der Ausgangssuspension ermitteln.

Um die benötigte Keimdichte von 10^4 pro $0,5\text{ cm}^2$ zu erreichen wurde das Inokulum auf einer Fläche von 5 cm^2 ausgestrichen.

3.2.3.4. Auswertung

Nach DIN-Definition ist die Minimale Hemmkonzentration die niedrigste Wirkstoffkonzentration, die auf der Agar-Platte ein makroskopisch sichtbares Wachstum des Inokulums verhindert. Kaum sichtbares Minimal-Wachstum oder wenige Einzelkolonien sind nicht zu bewerten.

3.2.3.5. Statistische Berechnung

Zur statistischen Beurteilung der Ergebnisse wurde der Medianwert und Modalwert verwendet.

Der Medianwert ist derjenige Wert, bei dem höchstens die Hälfte der Beobachtungen kleiner und höchstens die Hälfte größer ist. Bei einer ungeraden Anzahl von Beobachtungen ist es gerade der mittelste Wert. Bei einer geraden Anzahl nimmt man die Mitte zwischen den beiden mittelsten Werten.

$$n: \text{ungerade: } X_M = x_{\left(\frac{n+1}{2}\right)} ; n: \text{gerade: } X_M = \frac{x_{\left(\frac{n}{2}\right)} + x_{\left(\frac{n+2}{2}\right)}}{2}$$

Unter Modalwert (= häufigster Wert) versteht man denjenigen Wert bei dem die dichteste Konzentration von Beobachtungen vorkommt (WALTER, 1975).

Die Berechnung der Konzentrationen, die das Wachstum von 50 % bzw. 90 % der geprüften Isolate hemmen, wird am Beispiel von Cephacetril erläutert.

$$X_{50} - X_1 = \frac{50 - Y_1}{Y_2 - Y_1} \cdot (X_2 - X_1)$$

$$C_{50} = C_0 \cdot 2^{X_{50}}$$

$$X_{90} - X_3 = \frac{90 - Y_3}{Y_4 - Y_3} \cdot (X_4 - X_3)$$

$$C_{90} = C_0 \cdot 2^{X_{90}}$$

Berechnungsbeispiel:

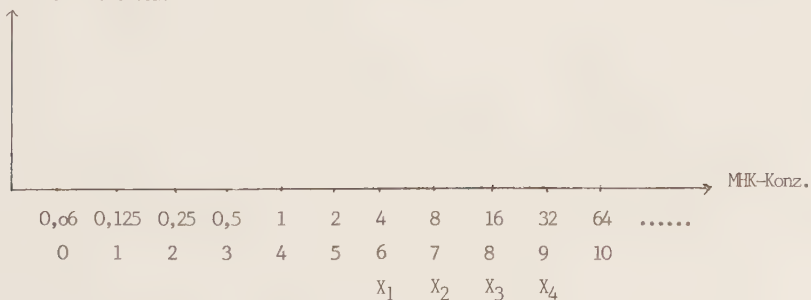
$$\frac{50 - 7,3}{61 - 7,3} = \frac{X_{50} - 6}{7 - 6}$$

$$X_{50} = 6,7951$$

$$C_{50} = 0,06 \cdot 2^{6,7951}$$

$$MHK_{50} = 6,663$$

Kumulativer Prozentsatz



MHK	Anzahl der Isolate (n)	Kumulativer Prozentsatz	
4	16	7,3	Y ₁
8	117	61	Y ₂
16	48	83	Y ₃
32	5	85,3	Y ₄
64	12	90,8	
128	6	93,6	
128	6,4	100	

3.3. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

3.3.1. ANZAHL DER E. COLI-KEIME

Durch Differenzierung mittels Endo-C-Agar erwiesen sich 200 der untersuchten Keime als E. coli-Stämme. Der prozentuale Anteil von E. coli an den 218 coliformen Keimen beträgt somit 91,7 %.

3.3.2. ERGEBNIS DES RESISTENZTESTES

Zum Resistenztest standen alle 218 coliformen Keime zur Verfügung.

Einen zusammenfassenden Überblick darüber, welche Chemotherapeutika die geringsten Resistenzquoten erwarten lassen, geben die Tabellen 11, 12 und 13, sowie Abb. 10 wieder.

Tabelle 11

Ergebnis des Resistenztestes

Chemotherapeutika	Empfindl.(E)		Mäßig empf.(e)		Resistent	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Ampicillin	124	56,9	30	13,7	64	29,4
Penicillin G	2	0,9	2	0,9	214	98,2
Gentamicin	189	86,7	25	11,5	4	1,8
Erythromycin	17	7,8	6	2,8	195	89,4
Tetracyclin	156	71,6	9	4,1	53	24,3
Nitrofurantoin	184	84,4	9	4,1	25	11,5
Chloramphenicol	172	78,9	4	1,8	42	19,3
Cotrimoxazol	190	87,2	1	0,4	27	12,4
Polymyxin B	202	92,7	10	4,6	6	2,7
Oxacillin	2	0,9	1	0,4	215	98,7
Streptomycin	90	41,3	53	24,3	75	34,4
Neomycin	130	59,6	56	25,7	32	14,7
Spectinomycin	161	73,9	11	5,0	46	21,1
Lincomycin	3	1,4	-	-	215	98,6
Sulfamethazol	135	61,9	15	6,9	68	31,2
Cephacetril	177	81,2	15	6,9	26	11,9
BAY Vp 2674 *	218	100	-	-	-	-

* Da die in vorliegender Arbeit ermittelten Hemmhofdurchmesser deutlich höher liegen als 15 mm, kann von empfindlichen Stämmen gesprochen werden. Für 67 Stämme liegen die Hemmhofdurchmesser zwischen 20 und 25 mm, für 76 Stämme zwischen 26 und 30 mm, während 75 Isolate einen Durchmesser von >30 mm aufweisen.

Tabelle 12

Die wirksamsten Chemotherapeutika

Chemotherapeutika	Empfindliche Keime in %
BAY Vp 2674	100
Gentamicin	98,2
Polymyxin B	97,3
Nitrofurantoin	88,5
Cephacetril	88,1
Cotrimoxazol	87,6
Neomycin	85,3
Chloramphenicol	80,7
Spectinomycin	79,9
Tetracyclin	75,7
Ampicillin	71,6

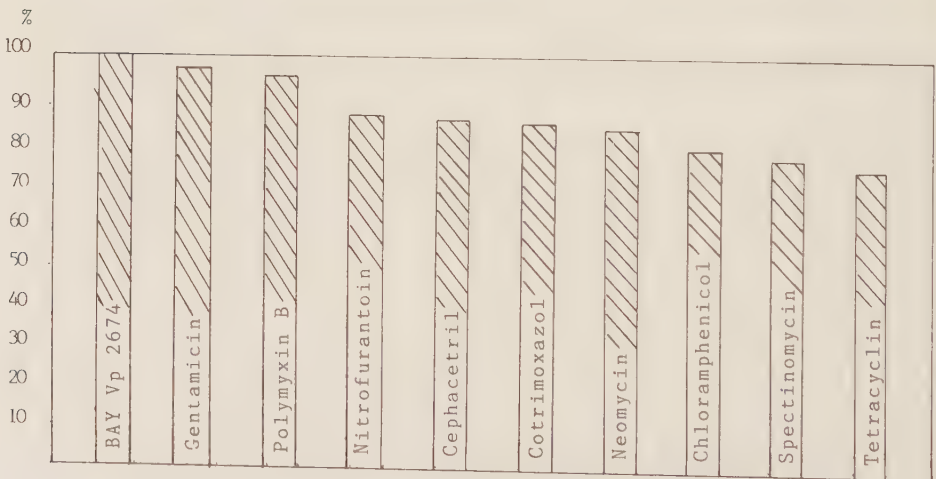


Abb. 10

Graphische Darstellung des Resistenztestes (% empfindl. Keime

Tabelle 13

Zusammenfassender Überblick über die Resistenzsituation von 218 aus Mastitiden isolierten coliformen Keimen.

Antibiotika	Anzahl der resist. Stämme	Resistenz $\approx$ % in Gruppen zusammengefaßt
BAY Vp 2674	0	0 %
Gentamicin	4	2 %
Polymyxin B	6	
Nitrofurantoin	25	11 %
Cephacetril	26	
Cotrimoxazol	27	
Neomycin	32	18 %
Chloramphenicol	42	
Spectinomycin	46	
Tetracyclin	53	27 %
Ampicillin	64	
Sulfamethazol	68	

Von den drei, der MHK-Bestimmung unterzogenen Chemotherapeutika, waren gegenüber Cephacetril 26 coliforme Stämme resistent (11,9 %), 4 Stämme (1,8 %) waren für Gentamicin unempfindlich, während BAY Vp 2674 das Wachstum aller 218 untersuchten coliformen Stämme hemmte.

Zwei Keimkulturen (Tagebuch Nr. 302 D, 476) waren nur gegenüber drei Chemotherapeutika empfindlich und zwar beide gegen Gentamicin, Polymyxin und BAY Vp 2674. Alle anderen Keime erwiesen sich mindestens gegenüber vier Chemotherapeutika als empfindlich.

Bei den vier mitgeführten Keimen der Gattung *Proteus vulgaris* sowie den drei *Pseudomonas*keimen ergaben sich folgende Resistenzmuster (Tabelle 14, 15).

Tabelle 14

Resistenzmuster für 4 Stämme von *Proteus vulgaris*.

Amp.	Pen.	Gent.	Ery.	Tetr.	Nitr.	Chl.	Poly.B	Str.	Neo.	Spec.	Sulf.	BVp	CT
R	R	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	R
E	R	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	E
R	E	E	R	R	R	R	R	e	R	R	R	E	E
E	E	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	E

Tabelle 15

Resistenzmuster für 3 Stämme von *Pseudomonas aeruginosa*

Amp.	Pen.	Gent.	Ery.	Tetr.	Nitr.	Chl.	Poly.B	Str.	Neo.	Spec.	Sulf.	BVp	CT
R	R	E	R	R	R	R	E	e	e	R	R	E	R
R	R	E	R	R	R	R	E	e	E	R	R	E	R
R	R	E	R	E	R	R	E	R	e	R	R	E	R

E = empfindlich ; e = mäßig empfindlich ; R = resistent

Bei den vier Proteusstämmen traten nur gegenüber Gentamicin und BAY Vp 2674 keine Resistenzen auf. Gegenüber Pseudomonas aeruginosa erwiesen sich nur Gentamicin, Polymyxin B und BAY Vp 2674 bei allen drei Stämmen als wirksam. Mit Ausnahme von Neomycin, dem gegenüber sich zwei Stämme als mäßig empfindlich (e) erwiesen, lagen bei allen anderen Chemotherapeutika Resistenzen vor.

3.3.3. ERGEBNIS DER MHK-BESTIMMUNG

Die 218 der MHK-Bestimmung unterzogenen Kulturen teilen sich in 200 (91,7 %) E. coli und 18 (8,3 %) andere coliforme Keime.

Die Untersuchungen wurden in mehreren Versuchsperioden durchgeführt. Pro Durchlauf konnten 25 Keime auf BAY Vp 2674, Gentamicin und Cephacetril geprüft werden. Die Verteilung der MHK-Werte der drei Wirkstoffe bei euterpathogenen coliformen Keimen zeigte bemerkenswerte Unterschiede wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich wird.

Tabelle 16

MHK-Werte von BAY Vp 2674 gegenüber 218 coliformen Stämmen

MHK (µg/ml)	Anzahl d. colif. Stämme	%
0,03	68	31,2
0,06	101	46,3
0,125	25	11,5
0,25	20	9,2
0,5	2	0,9
1	2	0,9

Tabelle 17

MHK-Werte von Gentamicin gegenüber 218 coliformen Stämmen

MHK ($\mu\text{g/ml}$)	Anzahl d. colif. Stämme	%
0,125	2	0,9
0,25	73	33,5
0,5	99	45,4
1	34	15,6
2	7	3,2
4	3	1,4

Tabelle 18

MHK-Werte von Cephacetril gegenüber 218 coliformen Stämmen

MHK ($\mu\text{g/ml}$)	Anzahl d. colif. Stämme	%
4	16	7,3
8	117	53,7
16	48	22,0
32	5	2,3
64	12	5,5
128	6	2,8
> 128	14	6,4

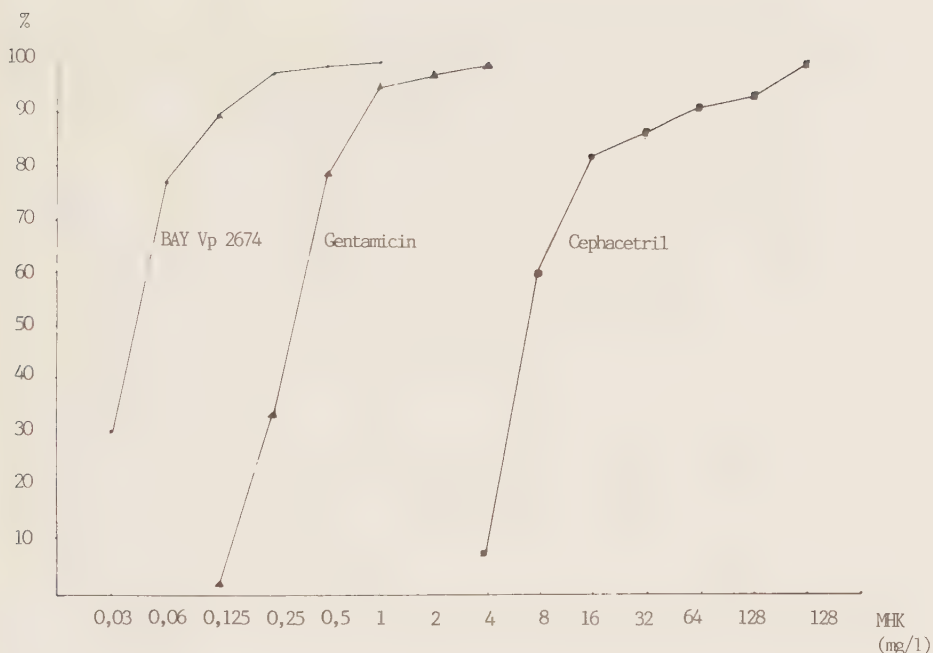


Abb. 11

Kumulativer Prozentsatz der MHK-Werte von BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin gegenüber coliformen euterpathogenen Erregern

BAY Vp 2674 bewirkte in einer Konzentration von $\leq 0,06 \mu\text{g/ml}$ bei 77,5 % der untersuchten coliformen Stämme eine Wachstumshemmung, in einer Konzentration von $0,125 \mu\text{g/ml}$ bzw. $0,25 \mu\text{g/ml}$ trat eine Hemmung bei weiteren 45 Stämmen (20,6 %) ein. Die Minimalen Hemmkonzentrationen für die übrigen 4 Stämme lagen bei $0,5 \mu\text{g/ml}$ bzw. $1 \mu\text{g/ml}$.

Gentamicin hemmte das Wachstum von mehr als 3/4 (79,8 %) der coliformen Stämme in einer Konzentration von $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$, bei weiteren 34 Stämmen (15,6 %) in einer Konzentration von $1 \mu\text{g/ml}$ und die übrigen 10 (4,9 %) in einer Konzentration von 2 - 4 $\mu\text{g/ml}$.

Für 61 % der Keime lag die Minimale Hemmkonzentration von Cephacetril bei $\leq 8 \mu\text{g/ml}$, für ein weiteres Viertel (22 %) bei $16 \mu\text{g/ml}$ und für 23 Stämme (10,6 %) bei 32 - 128 $\mu\text{g/ml}$. Bei 14 Stämmen (6,4 %) konnte auch bei einer Konzentration von 128 $\mu\text{g/ml}$ das Wachstum nicht gehemmt werden.

Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung bei den drei Keimen der Gattung *Pseudomonas aeruginosa* sowie bei den vier Keimen der Gattung *Proteus vulgaris* sind aus Tabelle 21 zu ersehen.

Die MHK-Werte von Cephacetril gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* überschreiten dreimal 128 $\mu\text{g/ml}$, die höchste geprüfte MHK-Stufe.

Tabelle 21

Minimale Hemmkonzentrationen der geprüften Substanzen für *Pseudomonas aeruginosa* und *Proteus vulgaris*

	0,125	0,5	1	2	4	8	16	...	> 128
BAY VP 2674	o o o o		$\Delta \Delta$	Δ					
Cephacetril							o o o o	$\Delta \Delta \Delta$	
Gentamicin			o o o o		$\Delta \Delta \Delta$				

Δ einzelner Stamm von *Pseudomonas aeruginosa*
 o einzelner Stamm von *Proteus vulgaris*

Auf jeder untersuchten Platte wurde zur Genauigkeitskontrolle ein Kontrollkeim mit bekannter Empfindlichkeit (*E. coli* DSM 1103) mitgeführt. Die Variationsbreite der MHK-Werte lag bei BAY Vp 2674 zwischen 0,03 µg/ml und 0,06 µg/ml; bei Gentamicin zwischen 0,25 µg/ml und 0,5 µg/ml, während bei Cephacetril die Werte zwischen 16 µg/ml und 32 µg/ml variierten.

Tabelle 22

MHK-Werte des Kontrollstammes

MHK (µg/ml)	BAY Vp 2674	Gentamicin	Cephacetril
0,03	40 x		
0,06	1 x		
0,125			
0,25		30 x	
0,5		10 x	
1			
2			
4			
8			
16			32 x
32			8 x

4. D I S K U S S I O N

=====

Es ist bekannt, daß zwischen dem vermehrten Antibiotikumverbrauch und der steigenden Resistenzentwicklung eine gewisse Korrelation besteht, der man nur durch eine gezielte Therapie bei strenger Indikationsstellung begegnen kann. Besonders lang andauernde und gleichförmige Behandlungen bedingen vielfach ein Resistenterwerden der Erreger. Deshalb ist es von außerordentlicher Wichtigkeit, daß die routinemäßige chemotherapeutische Prophylaxe eingeschränkt wird und statt dessen nach Anfertigung eines Antibiotogrammes das wirkungsvollste Chemotherapeutikum verwendet wird.

Die Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit von Bakterienstämmen gehört heute zu den häufigsten Aufgaben in der medizinischen Mikrobiologie, denn der Behandelnde benötigt eine Zuordnung des Bakterienstammes zu den drei Klassen:

empfindlich (E), mäßig empfindlich (e), resistent (R)
Der Begriff "empfindlich" besagt: eine durch diesen Erreger verursachte Infektion kann wahrscheinlich erfolgreich mit dem gewählten Chemotherapeutikum in normaler Dosierung therapiert werden.

"resistent" besagt: die Minimale Hemmkonzentration ist so hoch, daß kein Nutzen vom Einsatz des Chemotherapeutikums zu erwarten ist.

Bei der Kategorie "mäßig empfindlich" ist die Wirkung des Chemotherapeutikums zweifelhaft, zumindest in normaler Dosierung (OXOID).

In vorliegender Arbeit sollten deshalb anhand des Agar-Diffusions- und Agarverdünnungstestes drei Chemotherapeutika auf ihre Wirksamkeit gegenüber coliformen Keimen geprüft werden.

Grundsätzlich gibt es zwei Methoden zur Resistenzbestimmung, den leicht durchführbaren Blättchentest und die aufwendigeren Reihenverdünnungsmethoden (Röhrenverdünnungstest, Plattenverdünnungstest). Die in der bakteriologischen Routine-Diagnostik verwendete Methode zur Bestimmung der Empfindlichkeit eines Keimes ist meistens die Agardiffusionsmethode, die dem Therapeuten in der Regel die gewünschten Informationen liefert. Für wissenschaftliche Untersuchungen ist sie jedoch weniger geeignet, da sie, je nach Art und Weise der Durchführung, Resultate mit großer Streuung liefert.

Für die Erhebung der Resistenzsituation, die Resistenzentwicklung sowie zum Resultatsvergleich verschiedener Untersuchungslaboratorien ist es von Vorteil, wenn für die Erreger jeweils die Minimale Hemmkonzentration (MHK) für die entsprechenden Chemotherapeutika bestimmt wird. Anerkanntermaßen liefern die Verdünnungstests die exakteren Werte hinsichtlich der Chemotherapeutikaempfindlichkeit (Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie, 1982), sind aber mit einem hohen Material- und Zeitaufwand verbunden sowie arbeitsmäßig sehr aufwendig.

Ergebnisse der Resistenzbestimmung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß bei euterpathogenen coliformen Keimen gegenüber BAY Vp 2674 keine Resistenzen auftreten. Eine ebenfalls sehr gute in vitro-Wirksamkeit erzielen Gentamicin mit 1,8 % sowie Polymyxin mit 2,7 % resistenten Stämmen.

Cephacetril mit einer Resistenzquote von 11,9 % kann zu den Chemotherapeutika mit guter Wirksamkeit gezählt werden, ebenso Nitrofurantoin (11,5 %), Cotrimoxazol (12,4 %) sowie Neomycin (14,7 %).

Gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* ist die Aktivität von Cephacetril deutlich herabgesetzt, alle drei Stämme erweisen sich als resistent. BAY Vp 2674 sowie Gentamicin hemmen dagegen das Wachstum der drei Stämme.

Proteus vulgaris erweist sich gegen BAY Vp 2674, Cephacetril und Gentamicin als empfindlich.

Bei den Resistenzbestimmungen für 370 *E. coli*-Stämme, die von DAVIDSON und Mitarb. (1982) durchgeführt wurden, erwiesen sich ein Stamm (0,2 %) gegenüber Gentamicin, 2 Isolate gegenüber Nitrofurantoin (0,5 %) und 4 Stämme (1 %) gegenüber Polymyxin als resistent.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die antibakterielle Empfindlichkeit von gramnegativen Keimen, isoliert aus Mastitismilch, von ANDERSON und Mitarb. (1982) gleichen im Falle des Gentamicin mit einer Resistenzquote von 2,2 % den eigenen Ergebnissen (1,8 %).

MC DONALD und Mitarb. (1977) berichten, daß von 214 gramnegativen Mastitisserregern gegenüber Gentamicin 96 %, Polymixin 93 % und Chloramphenicol 91 % empfindlich waren.

WEIGT (1984) berichtet von einer 22 % igen Resistenzquote bei E. coli-Keimen gegenüber Cephacetril, während alle untersuchten 248 Stämme auf Gentamicin sensibel reagierten.

GEDEK (1985) fand bei seinen an 200 coliformen Isolaten durchgeführten Untersuchungen gegenüber Cephacetril 8,5 % resistente Stämme.

Ergebnis der MHK-Bestimmung

Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen im wesentlichen mit den Angaben in der Literatur überein. Abweichungen im einzelnen sind insbesondere auf unterschiedliche Stammkollektive, Nährmedien, Inokulumgröße, Verdünnungsverfahren, Materialeinsatz und Prüfungsmethoden zurückzuführen.

SOGAARD (1982) erforschte die Minimale Hemmkonzentration von Gentamicin bei 131 E. coli-Stämmen. Im einzelnen veröffentlichte er folgende MHK-Werte (eigene Ergebnisse in Klammern):

0,5 µg/ml hemmten das Wachstum bei 12 % (45,4 %) der untersuchten E.coli-Stämme, 1 µg/ml bei 51,5 % (15,6 %), 2 µg/ml bei 33,1 % (3,2 %), 4 µg/ml bei 3,0 % (1,4 %) und 8 µg/ml bei 1,5 % (0 %).

SCHIFFERLI und Mitarb. (1984) veröffentlichten ebenfalls MHK-Werte von Gentamicin gegenüber *E. coli*. Der von ihnen angegebene MHK-Mittelwert liegt bei 0,63 µg/ml (0,58 µg/ml). Sie testeten in ihren Versuchen 127 *E. coli*-Isolate.

Bei den von GEDEK (1984) an 243 *E. coli*-Stämmen durchgeführten Hemmkonzentrationsbestimmungen lag die MHK für 73,3 % (78,9 %) aller Keime bei 0,25 µg/ml und 0,5 µg/ml, für 23,9 % (15,6 %) bei 1 µg/ml und für die restlichen 2,9 % (3,2 %) bei 2 µg/ml.

Ebenfalls GEDEK (1985) war es, der die antibakterielle Wirksamkeit von Cephacetril untersuchte. An 200 euterpato-genen coliformen Keimen bestimmte er die Minimalen Hemmkonzentrationen. Nach seinen Ergebnissen werden 88,5 % (61 %) coliforme Stämme bei einer Konzentration von ≤ 8 µg/ml gehemmt; weitere 3 % (22 %) bei 16 µg /ml, 2,5 % (2,3 %) bei 32 µg/ml, während die restlichen 6 % (7 %) eine Hemmkonzentration von 64 µg/ml und mehr aufweisen.

Während für Cephacetril in der Literatur nur wenige Berichte über MHK-Bestimmungen vorliegen, existiert für BAY Vp 2674 nur die Produktinformation als Vergleichsmöglichkeit. Danach liegen die MHK-Werte für 138 untersuchte *E. coli*-Stämme zwischen 0,01 µg/ml und 0,25 µg/ml. In den vorliegenden Untersuchungen erstrecken sich die Minimalen Hemmkonzentrationen von 0,03 µg/ml bis 1 µg/ml.

Die MHK-Werte dokumentieren nur die in vitro-Empfindlichkeit der Erreger. Für den Therapieerfolg spielen selbstverständlich noch andere Faktoren, zum Beispiel pharmakokinetische Daten, wie Resorption, Verteilung und Metabolismus, eine Rolle. Trotzdem sind diese in vitro-Studien unerlässlich, weil sie zum Beispiel aufzeigen, in welchen Fällen bestimmte Wirkstoffe nicht eingesetzt werden können, weil die in vivo realisierbaren Wirkstoffspiegel die Erreger wegen deren hoher MHK-Werte nicht erfassen.

Die in der vorliegenden Untersuchung ermittelten MHK-Werte (Mittelwert = 0,08) von BAY Vp 2674 belegen die außerordentlich hohe in vitro-Wirksamkeit gegenüber coliformen Keimen. Gentamicin und Cephacetril zeigen zwar auch gute in vitro-Aktivität mit Mittelwerten von 0,58 µg/ml bzw. 24,1 µg/ml, ohne jedoch vergleichbare Aktivitäten zu erzielen.

Die Studie über die in vitro-Empfindlichkeit von coliformen Mastitiserregern beim Rind soll grundsätzliche Richtlinien für eine gezielte Mastitistherapie liefern.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

=====

In der vorliegenden Arbeit wurde im Zeitraum Oktober 1984 bis Juli 1985 die Empfindlichkeit von *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Proteus vulgaris* euterpathogener Herkunft gegenüber verschiedenen Antibiotika und Chemotherapeutika untersucht.

Insgesamt wurden 218 coliforme Stämme, drei *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme sowie vier *Proteus vulgaris*-Isolate der Testung unterzogen.

Die Sensibilitätsprüfung wurde durch Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentrationen im Agar-Verdünnungsverfahren und mit dem Agar-Diffusionstest nach den Richtlinien des DIN Deutsches Institut für Normung.

Das Chemotherapeutikum mit der geringsten Resistenzquote war BAY Vp 2674 (0 % resistente Stämme), gefolgt von Gentamicin (1,8 %), Polymycin B (2,7 %), Nitrofurantoin (11,5 %) sowie Cephacetril (11,9 %).

Die festgestellten Minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) liegen bei allen coliformen Stämmen für BAY Vp 2674 in einem Bereich von 0,03 µg/ml und 1 µg/ml, für Gentamicin in einem Intervall von 0,125 µg/ml bis 4 µg/ml, während sich für Cephacetril die Werte von 4 µg/ml bis ≥ 128 µg/ml erstrecken.

Die Medianwerte und Modalwerte betragen für BAY Vp 2674 0,06 µg/ml, für Gentamicin 0,5 µg/ml und für Cephacetril 8 µg/ml.

Die MHK-Werte der drei *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme liegen für BAY Vp 2674 im Bereich von 1 µg/ml und 2 µg/ml, für Gentamicin bei 4 µg/ml, während sie für Cephacetril dreimal 128 µg/ml, die höchste geprüfte MHK-Stufe, überschreiten.

Die vier *Proteus vulgaris*-Isolate werden von BAY Vp 2674 bei 0,125 µg/ml, von Gentamicin bei 1 µg/ml und von Cephacetril bei 16 µg/ml gehemmt.

S U M M A R Y
=====

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF COLIFORM BACTERIA ISOLATED FROM ACUTE BOVINE MASTITIS TO BAY Vp 2674, CEPHACETRILE AND GENTAMICIN.

In this study a total of 218 coliform strains , three strains of *Pseudomonas aeruginosa* and four strains of *Proteus vulgaris* isolated from acute mastitis in cows were tested for susceptibility to several antibiotics and chemical therapeutics. The tests were made during the period of October 1984 until July 1985.

Antimicrobial sensitivity testing was performed using the methods described by the DIN Deutsches Institut für Normung.

The chemical substance with the lowest resistance rate was BAY Vp 2674 (0 % resistant strains), followed by Gentamicin (1,8 %), Polymyxin B (2,7 %), Nitrofurantoin (11,5 %) and Cephacetrile (11,9 %).

The detected minimal inhibitory concentrations (MIC) for all tested coliform germs reach for BAY Vp 2674 from 0,03 µg/ml to 1 µg/l, for Gentamicin from 0,125 µg/ml to 4 µg/ml and for Cephacetrile from 4 µg/ml to 128 µg/ml.

Median values and Modal values of the MIC for the examined coliform strains are for BAY Vp 2674 0,06 µg/ml, for Gentamicin 0,5 µg/ml and for Cephacetrile 8 µg/ml.

The MIC of the three *Pseudomonas aeruginosa* strains reach for BAY Vp 2674 from 1 µg/ml to 2 µg/ml, for Gentamicin 4 µg/ml, while that for Cephacetrile exceeded three times the highest discovered MIC-rate of 128 µg/ml.

The four *Proteus vulgaris* strains are inhibited by BAY Vp 2674 at 0,125 µg/ml, by Gentamicin at 1 µg/ml and by Cephacetrile at 16 µg/ml.

LITERATURVERZEICHNIS

=====

- AEHNELT, E. und KRAUSE, D. (1955)
Zur Colimastitis beim Rind.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 62, 211 - 216
- ALTUCCI, P., SAPIO, E. und ESPISOTO, E. (1966)
Gentamicin: Antibacterial Activity in vitro
and Clinical Studies.
Chemotherapia, 10, 312 - 320
- ANDERSON, K.L., SMITH, A.R., GUSTAFSSON, B.K., SPAHR, S.L.
und WHITMORE, H.L. (1982)
Diagnosis and treatment of acute mastitis in a
large dairy herd.
J. Am. Vet. Med. Assoc., 181, 690 - 693
- APPEL, G.B. und NEU, H.C. (1978)
Gentamicin in 1978.
Ann. Intern. Med., 89, 528 - 538
- BAIER, W., KALICH, J. und KRIEGER, H. (1954)
Beitrag zur Ätiologie der Colimastitis.
Zbl. Vet. Med., 1, 265 - 274
- BAYER, Produktinformation (1984)
BAY Vp 2674
- BAYER, Pers. Mitteilung (bezüglich break-point Hemm-
höhe) (1985)

- BERGEY'S, Manual of Determinating Bacteriology. (1984)
8. Ed.
The Williams & Wilkins Company, Baltimore
- BLACK, J., CALESNICK, B., WILLIAMS, D. und WEINSTEIN, M. (1963)
Pharmacology of Gentamicin.
Antimicrob. Agents. & Chemotherap., 138 - 147
- CHRISTIANSEN, M. (1971)
Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darm von
gesunden Spanferkeln und bei deren Darminfektionen.
Zbl. Bakt. I., Orig. 79, 196 - 248
- CIBA-GEYGY, Pers. Mitteilung (Hemmhöfe) (1984)
- CONRADI, H. und BIERAST, W. (1913)
Bact. coli commune als Krankheitserreger.
In Kolle, W. und Wassermann, A.,
Handbuch der pathogenen Mikroorganismen,
2. Aufl., Bd. 6, 483 - 514
Gustav Fischer Verlag, Jena
- DAVIDSON, I.N., BABISH, I.G. und DUNNY, G.H. (1982)
Bovine mastitis: antimicrobial resistance patterns.
J. Am. Vet. Med. Assoc., 180 (2), 153 - 155
- DIERNHOFER, K. (1950)
Diagnostik der Euterentzündung.
Wien. Tierärztl. Mschr., 37, 809 - 866
- DIERNHOFER, K. (1954)
Euteramputation zum indirekten Nachweis der Toxin-
einwirkung an zwei schweren Mastitisfällen.
Wien. Tierärztl. Mschr., 41, 593 - 597

DUNHAM, R. (1967)

Die Wirkung von Gentamicin im Experiment und bei
der Mastitis des Rindes.

Vet. Med. Diss., Giessen

DVOŘÁČEK, K., MODR, Z., SCHMIDT, O. und NEČÁSKOVÁ, A. (1974)

Contribution to the Pharmacokinetics of a New
Cephalosporin Derivative.

Arzneim.-Forsch. (drug res.), 24, 1468 - 1470

FARMER III, I.I., DAVIS, B.R., HICKMAN-BRENNER, F.W.,
MC WHORTER, A., HUNTLEY-CARTER, G.P., ASBURY, M.A.,
RIDDLE, C., WATHEN-GRADY, H.G., ELIAS, C.,
FANNING, G.R., STEIGERWALT, A.G., O'HARA, C.M.,
MORRIS, G.K., SMITH, P.B., AND BRENNER, I. (1985)

Biochemical Identification of New Species and
Biogroups of Enterobacteriaceae Isolated from
Clinical Specimens.

Journal of Clinical Microbiology, Jan. 1985, 46 - 76

FEDERSPIL, P. (1976)

Zur Ototoxizität der Aminoglykosid-Antibiotika.

Infection 4, 239 - 248

FIEBINGER, E. und SPIELBERGER, U. (1963)

Klinische Erfahrungen mit Supramycin-Suspension

GRÜNENTHAL bei akuten Mastitiden des Rindes

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 76, 367 - 369

FORTH, W., HENSCHLER, D. und RUMMEL, W. (1980)

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.

3. Aufl., Bibliographisches Institut,

Wissenschaftsverlag, Mannheim/Wien/Zürich

FRÜH, H.P. (1976)

Erhebungen über Auftreten und Verlauf der Mastitis
beim Rind.

Vet. Med. Diss., Zürich

GEDEK, W. (1984)

Chemotherapeutika-Resistenz gramnegativer Mastitis-
erreger.

Tierärztl. Umsch., 39, 513 - 518

GEDEK, W. (1985)

In-vitro-Profile der neuen Mastitistherapeutika
Cephacetril, Cefoperazon und Trimethoprim.

Prakt. Tierarzt, 4. 297 - 300

GLÄTTLI, H.R. (1961)

Eutererkrankungen des Rindes.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 103, 140 - 151

GÖTZE, R. (1951)

Zur Bekämpfung der Euterentzündungen des Rindes.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 58, 198 - 205, 213 - 215

GRUNERT, E. und WEIGT, U. (1965)

Beitrag zur Klebsiellen-Mastitis beim Rind.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 77, 116 - 120

HALLMANN, L. und BURKHARDT, F. (1974)

Klinische Mikrobiologie.

4. Aufl., 97 - 103

Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

HEIDRICH, H.J. und KELCH, F. (1956)

Zur Ätiologie der akuten Mastitis des Rindes.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 69, 357 - 359

- HEIDRICH, H.J. und RENK, W. (1963)
Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren.
Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg
- HEPDING, L. und WAHLIG, H. (1966)
Experimentelle Untersuchungen über ein neues Antibioticum, Gentamycin.
Arzneim. Forsch. (drug res.), 16, 1 - 11
- HUPKA, E. (1934)
Die mit Parese einhergehende Mastitis der Kühe.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 42, 609 - 611
- JENSEN, C.O. (1913)
Kälberruhr.
In Kolle, W. und Wassermann, A.,
Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen,
2. Aufl., Bd. 6, 121 - 144
Gustav Fischer Verlag, Jena
- JOEST, E. (1903)
Untersuchungen über Kälberruhr.
Z. Tiermed., 7, 377 - 413
- JOHANNSEN, E. (1972)
Resistenzprüfungen gegenüber verschiedenen Antibiotika bei coliformen Mastitis- und Umweltkeimen.
Vet. Med. Diss., Hannover
- KÄSTLI, P. (1963)
Die Ursachen der Mastitis.
Tierärztl. Umsch., 18, 527 - 534

KALICH, J. (1958)

Die Colimastitis des Rindes.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 65, 534 - 535

KAUFFMANN, F. (1943)

Über neue thermolabile Körper-Antigene der Coli-Bakterien.

Acta path. microbiol. scand., 20, 21 - 44

KIELWEIN, G. (1971)

Mitteilungen und Ausführungen im Rahmen des Fortbildungskurses für Tierärzte.

Giessen, April 1971

KNOTHE, H. und WIEDEMANN, B. (1975)

Die antimikrobielle Aktivität von Tobramycin.

Infection 3, Supple. 1, 2 - 10

KNÜSEL, F., KONOPKA, J., GELZER, E.A. und ROSSELET, A. (1974)

Antimicrobial Studies in vitro with Cephacetrile, a New Cephalosporin Derivative.

Arzneim. Forsch. (drug res.), 24, 1451 - 1455

KOHZ, E. (1971)

Die Colimastitis des Rindes, Problem und Therapie.

Tierärztl. Umsch., 26, 536 - 543

KRADOLFER, F., AHRENS, T., GELZER, J., VISCHER, W. und ZIMMERMANN, W. (1974)

Experimentelle Auswertung des neuen Cephalosporin Antibiotikums Cephacetril.

Arzneim. Forsch. (drug res.), 24, 1446 - 1450

- KRADOLFER, F., SACKMANN, W., ZAK, O., BRUNNER, H., HESS, R.,
KONOPKA, E.A. und GELZER, J. (1974)
Cephacetrile: Chemotherapy and Toxicology in Laboratory Animals.
Arzneim. Forsch. (drug res.), 24, 1459 - 1462
- KRAMER, R. und WEIGT, U. (1970)
Erfolgreiche Mastitisbehandlung durch gezielte Antibiotikatherapie.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 77, 82 - 83
- KUSCHINSKY, G. und LÜLLMANN, H. (1984)
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie.
S. 399
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, New York
- LAUERMANN, G. (1964)
Ist die derzeitige Mastitistherapie auf dem richtigen Weg ?
Prakt. Tierarzt, 35, 341 - 342
- LEUENBERGER, W., MARTIG, J. und NICOLET, J. (1978)
Überprüfung einer Behandlungsmethode für akute Mastitiden beim Rind.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 91, 41 - 45
- LODE, H., KEMMERICH, B., KOEPPE, P. und LANDMAACK, H. (1975)
Vergleichende klinische Pharmakologie von Gentamicin, Sisomicin und Tobramycin.
Infection 3, Suppl. 1, 65 - 68
- MARGET, W. und ROOS, G. (1981)
Das Arsenal der Cephalosporine.
Münch. Med. Wschr., 123, II, 1689 - 1692

MAURICE, P.N., RIESS, W., WELKE, A. und AMSON, K. (1974)
Cephacetril, ein neues Antibiotikum aus der
Cephalosporinreihe.
Arzneim. Forsch. (drug res.), 24, 1497 - 1501

MC CRACKEN, G.H., THRELKELD, N. und THOMAS, M.L. (1977)
Intravenous Administration of Kanamycin and
Gentamicin in Newborn Infants.
Pediatrics, 60 (4), 463 - 466

MC DONALD, J.S., MC DONALD, T.S. und ANDERSON, A.J. (1977)
Antimicrobial sensitivity of aerobic gram-negative
rods isolated from bovine udder infections.
Amer. J. Vet. Res., 38, 1503 - 1507

MORSELLI, P.L. (1977)
Drug Disposition during Development.
Spectrum, Publ., New York

MÜCK, H. (1963)
Beziehungen zwischen akuten und chronischen Masti-
tiden bzw. latenter Keimbesiedelung im Rindereuter.
Vet. Med. Diss., München

MÜLLER, R. und BERCHTOLD, M. (1979)
Behandlungsergebnisse bei akuten Mastitiden des
Rindes.
Schweiz. Arch. Tierheilk., 121, 15 - 22

NEUNDORF, R. (1960)
Zur Prophylaxe und Therapie der Mastitis des Rindes.
Mh. Vet. Med., 65, 328 - 334

NORMENAUSSCHUß Medizin im DIN Deutschen Institut für
Normung e.V., Agar-Diffusionstest DIN 58940,
Teil 2 (1981)

NORMENAUSSCHUß Medizin im DIN Deutschen Institut für
Normung e.V., Bestimmung der Minimalen Hemmkon-
zentration nach der Agar-Verdünnungsmethode
DIN 58940, Teil 6 (1979)

OBERMAYER, S. (1981)

Feldversuche mit einem Kombinationspräparat von
Ampicillin und Oxacillin zur intramammären Be-
handlung akuter Mastitiden des Rindes.
Vet. Med. Diss., München

OSINGA, A., MEYER, P. und DIJKSTRA, R.G. (1976)

Coliforme Mastitis bei Niederländisch-Schwarz-
bunten Kühen.
T. Diergeneskd., 101, 548 - 558,
zit. Landwirtschaftl. Zentbl., IV, 1977, 03 - 0554

OSSKO, M. (1978)

Doppelblindversuch über die Wirksamkeit des Kom-
binationspräparates Dexa-Tomanol^R beim Rind und
Schwein (Akute Mastitis, Pathologisches Euterödem,
Puerperale Septikämie der Mutterschweine).
Vet. Med. Diss., München

OTTEN, H. und PLEMPPEL, M. (1979)

Antibiotikafibel, Teil 1
4. Aufl., Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

OXOID, Die Bewertung der Chemotherapeutikaempfindlichkeit von schnellwachsenden Bakterien im Agardiffusions-test nach der Fehlerminimierungsmethode.

PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT für Chemotherapie (1982)

Arbeitsgemeinschaft Resistenz: Resistenz klinischer Isolate einiger Enterobacteriaceae sowie *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus faecalis* gegenüber Chemotherapeutika - Ergebnisse einer überregionalen kooperativen Studie aus den Jahren 1980 und 1981.

Infection 10, 310 - 314

POELS, J. (1899)

Rapport over de kalverziekte in Nederland, in opdracht van Z. Ex. den Minister van binnenland-sche zaken mitgebracht.

S' Gravenhage, 1899

Verlag M. Nijhoff

REISER, R. (1967)

Erfahrungen aus der tierärztlichen Praxis in der Behandlung von Mastitiden.

Tierärztl. Umsch., 22, 583 - 596

RENK, W. (1957)

Beiträge zur Diagnose und Pathogenese der akuten Mastitiden.

Zbl. Vet. Med., 4, 325 - 340

RENK, W. (1962)

Mastitiden bei Infektionen mit *E. coli*, *Aerobacter aerogenes* und *Klebsiella*.

Zbl. Vet. Med., 9, 264 - 281

RIEDERER, M. (1968)

Das Mastitisproblem aus der Sicht des Praktikers.
Prak. Tierarzt, 49, 307 - 309

ROEMER, G.B. und MATZ, K. (1972)

Bakteriologische Gesichtspunkte zur heutigen anti-
bakteriellen Chemotherapie.
Dtsch. Med. Wschr., 97, 1878 - 1885

ROLLE, M. (1932)

Die Euterentzündungen bei Kühen in Lettland.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 40, 257 - 260

ROLLE, M. und MAYR, A. (1984)

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und
Seuchenlehre. 5. Aufl.,
Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart

ROTTERS, H. (1979)

Untersuchungen im Zusammenhang mit der akuten
Mastitis des Rindes und über den Wert einer
Zusatztherapie mit Tomanol.
Vet. Med. Diss., Berlin

RUDOLF, J. (1928)

Beitrag zur Kenntnis der durch Stäbchen aus der
Coli-Parathyphusgruppe bedingten Mastitiden.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 36, 17 - 20

RUF, A. (1971)

Therapieversuche mit Gentamicin bei der Mastitis
des Rindes.
Vet. Med. Diss., Giessen

- SACK, K. und FREIESLEBEN, H. (1975)
Experimentelle Untersuchungen zur potentiellen
Nephrotoxizität von Tobramycin, Gentamicin und
Sisomicin.
Infection 3, Supple. 1, 40 - 49
- SACK, K., FREIESLEBEN, H., ZÜLLICH, B., BECK, H. und
SCHULZ, E. (1976)
Nebenwirkungen von Aminoglykosiden: Nephrotoxizität.
Infection 4, 231 - 238
- SAID, A.H. (1973)
Pathogenese und Behandlung der experimentellen
E. coli-Mastitis des Rindes.
T. Diergeneskd., 98, 387 - 396,
zit. Landwirtschaftl. Zbl., IV, 1973, 12 - 0555
- SEDLACK, J. und RISCHE, H. (1961)
Enterobacteriaceae-Infektionen. Epidemiologie
und Laboratoriumsdiagnostik.
VEB. Georg-Thieme-Verlag, Leipzig
- SIMON, C. und STILLE, W. (1979)
Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis.
4. Aufl., 65 - 77, 82, 108 - 115
Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York
- SOGAARD, H. (1982)
In-vitro antibiotic susceptibility of E. coli
isolated from acute and chronic bovine mastitis
with reference to clinical efficacy.
Nord. Vet. Med., 34, 248 - 254

SCHEEL, A. (1968)

Beitrag zur Ätiologie, Diagnostik und Therapie
akuter Mastitiden bei Rindern.

Wien. Tierärztl. Mschr., 55, 94 - 100

SCHIFFERLI, D., SCHÄLLIBAUM, M. und NICOLET, J. (1984)

Bestimmung der Minimalhemmkonzentration bei Ma-
stitiserregern beim Rind.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 126, 23 - 34

SCHILDBACH, R. (1960)

Ein Beitrag zur Pathogenese der Colimastitis unter
besonderer Berücksichtigung des Makro- und Mikro-
klimas.

Vet. Med. Diss., München

SCHLUEP, J., ROSSELET, A. und HEIM, H. (1979)

Comparative Evaluation of Cephacetrile in Ex-
perimentally Induced Bovine Mastitis.

Zbl. Vet. Med., B, 26, 304 - 324

SCHLUEP, J. und HEIM, H. (1980)

Ausscheidung in der Milch von Cefacetril und
Penicillin G nach intramammärer Applikation zu
verschiedenen Zeitpunkten.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 122, 39 - 43

SCHMALSTIEG, R. (1960)

Die Mastitis: tägliche Umweltbedingungen, Körper-
und Leistungseigenschaften des Rindes als Faktoren
der Anfälligkeit und Widerstandsfähigkeit.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 67, 104 - 107, 159 - 163

SCHMID-LINDNER, A. (1967)

Beiträge aus der Praxis zu Ursachen, Verlauf und
Behandlung akuter Mastitiden.
Vet. Med. Diss., München

SCHMIDT, H. (1942)

Coliinfektionen.
Behringwerk-Mitteilungen, 13 - 14, 81 - 110

SCHNEEMEIER, J. (1985)

Empfindlichkeitsprüfung von euterpathogenen coli-
formen Keimen gegenüber Polymyxin B.
Vet. Med. Diss., München

STABLEFORTH, A.W. (1950)

Die Mastitiden der Rinder mit besonderer Berück-
sichtigung der Bekämpfung des Streptococcus agalactiae.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 57, 253 - 258

STILLE, W. und SHAH, P. (1973)

Kinetik der Bakerizidie von Ampicillin, Penicillin G,
Carbenicillin, Cephalothin, Kanamycin, Gentamycin,
Polymyxin B, Sulfamethaxyzol/Trimethoprim gegenüber
E. coli.
Arzneim.-Forsch. (drug res.), 23, 58 - 60

TEUTE, H.W. (1961)

Prädisponierende Faktoren für das Auftreten von
Mastitis und Untersuchungen über die Zusammensetzung
von Mastitismilch.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 74, 185 - 189

TIDESTROM, C. und WAHLSTROM, H. (1983)

Antibiotic therapy for acute mastitis caused by E. coli.
Svensk. Veterinartidning, 35, 577 - 578

TITZE und WEICHEL (1910)

Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte.
Bd. 33, 516,
Springer Verlag

ULLNER, W. (1959)

Die Diagnostik und Therapie der Rindermastitis.
Tierärztl. Umsch., 23, 286 - 293

WAHLIG, H. (1966)

Antibakterielle Wirksamkeit von Gentamicin.
Ther. d. Gegenw., 11, 1404 - 1416

WALSER, K., BIEBER, E., DANNERBECK, G., GROPPER, M.,
HROPOT, M., LANKENFELD, H., MAYER, J., VERGHO, H.
und VICTOR, M. (1972)

Klinische Beiträge zur Kenntnis der akuten Masti-
tis (Mastitis acuta gravis) des Rindes.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 85, 266 - 269,
305 - 309, 330 - 333, 344 - 346, 364 - 366

WALTER, A.M. und HEILMEYER, L. (1975)

Antibiotika Fibel.
4. Aufl., Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

WALTER, E. (1975)

Biomathematik für Mediziner.
B. G. Teubner Verlag, Stuttgart

WEIGT, U. und FRERKING, H. (1967)

Zur Verbreitung perakut verlaufender Euterent-
zündungen durch ungenügend gereinigte Melkmaschinen.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 74, 610 - 612

WEIGT, U. (1984)

Überblick über Diagnose und Therapie akuter Mastitiden.

Coll. vet., XV, 119 - 123

WIEDEMANN, B., KLOPFER-KAUL, I. und TETZLAFF, G. (1979)

Untersuchungen über das Aminoglykosid-Antibiotika inaktivierende Enzym AAC-(6') IV.

Infection 7, Supple. 2, 192 - 196

WIESMANN, E. (1978)

Medizinische Mikrobiologie.

4. Aufl., 70 - 85, 86 - 101

Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

WINTER, H. (1974)

Untersuchungen über die Wirkung von Dimethylsulfoxid bei der akuten Mastitis des Rindes.

Vet. Med. Diss., München

ZIV, G. und NOUWS, J.F.M. (1977)

Clinical Pharmacology of Cephacetrile in Ruminants.

Zbl. Vet. Med., B, 24, 798 - 811

ZIV, G. (1980 a)

Availability and Usage of New Antibacterial Drugs in Europe.

J. Am. Vet. Med. Assoc., 176, 1122 - 1128

ZIV, G., NOUWS, J.F.M. und VAN GINNEKEN, G.A.M. (1982)

The Pharmacokinetics and tissue levels of Polymyxin B, Colistin and Gentamycin in calves.

J. Vet. Pharmacol. Therap., 5, 45 - 48

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Walser für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gewährte freundliche und geduldige Hilfestellung.

Mein Dank gilt ebenso den Mitarbeitern des Tiergesundheitsdienstes Kempten und den Mitarbeitern des Tiergesundheitsdienstes Traunstein für die Überlassung von Untersuchungsmaterial.

Für die Unterstützung bei den Versuchsdurchführungen danke ich den technischen Assistentinnen der Gynäkologischen Tierklinik München.

LEBENS LAUF

Am 4.1.1954 wurde ich als Sohn des praktischen Tierarztes Dr. Anton Steinberger und dessen Ehefrau Frieda Steinberger, geborene Reitmeier, in Grabenstätt geboren.

Nach Abschluß der Schulausbildung am CJD Oberurff 1977, begann ich im Sommersemester 1978 an der Tierärztlichen Hochschule Hannover mit dem Studium. Unter Beibehaltung meines Studienfaches wechselte ich zum Sommersemester 1980 an die Ludwig-Maximilians-Universität nach München. Im Januar 1984 wurde mir die tierärztliche Approbation zugesprochen.

Seit Februar 1984 arbeite ich in der Praxis meines Vaters als Assistent.

Im März 1986 heiratete ich die Rechtsreferendarin Sabine Klumpe.

